

Celice GIST-T1 | 305777

Splošne informacije

Description

Celična linija GIST-T1 je uveljavljen model človeškega gastrointestinalnega stromalnega tumorja (GIST), pridobljen iz metastatske pleuralne lezije, ki je nastala kot posledica primarnega GIST-a v želodcu pri odrasli japonski ženski. Imunohistokemične analize so potrdile močno pozitivnost za c-KIT (CD117) in CD34, dva značilna markerja GIST, medtem ko je bila linija negativna za desmin, S-100 in α -aktin gladkih mišic, kar potrjuje njen nemišični in ne-nevralni izvor. Citogenetske študije so razkrile hipodiploidni kariotip s kompleksnimi kromosomskimi anomalijami, vključno z obročnim kromosomom in več neuravnoteženimi translokacijami. Analize primerjalne genomne hibridizacije (CGH) in FISH so pokazale amplifikacije visokega nivoja v regijah 3q26.1–27, 5p12–15.1 in 7q21.3–36, ki so pogosto povezane z amplifikacijo onkogenov pri GIST.

GIST-T1 vsebuje klinično relevantno 57-nukleotidno in-frame delecijo v eksonu 11 gena *KIT* (V570-Y578), eno najpogostejših mutacij pri bolnikih z GIST in ključni cilj zaviralcev tirozin kinaze, kot je imatinib. Zaradi tega je GIST-T1 postal bistven model za preučevanje onkogeneze, ki jo povzroča KIT, in terapevtskega odziva. V dolgoročni kulturi celice GIST-T1 kažejo stabilno proliferacijo in ohranjajo občutljivost na imatinib, razen če niso posebej selekcionirane za odpornost. Za raziskovalne namene so bile ustvarjene derivativne odporne podlinije GIST-T1, ki kažejo sekundarne mutacije KIT (npr. D820V ali D820Y), kar omogoča preučevanje mehanizmov odpornosti in adaptivnih transkripcijskih sprememb. Ti odporni modeli kažejo spremembe v genih, povezanih z detoksifikacijo, regulacijo celičnega cikla in izogibanjem apoptozi.

GIST-T1 je prispeval tudi k odkritju novih onkogenih dejavnikov pri GIST, vključno s fuzijskimi geni, kot je EXOC2-AK7, identificiranimi v podlinijah, odpornih na imatinib. Funkcionalne študije so pokazale, da ti fuzijski geni povečajo proliferativne in migracijske sposobnosti celic GIST ter jih občutljivijo na imatinib, kar kaže na nove terapevtske poti. Prisotnost super-povečevalcev, povezanih z GIST, in mrež transkripcijskih faktorjev (npr. HAND1 pri metastatskem napredovanju) dodatno krepi uporabnost modela pri razlagi epigenetske in transkripcijske arhitekture GIST. Skupaj GIST-T1 zagotavlja robusten, genetsko in fenotipsko validiran sistem za preučevanje biologije, odziva na zdravila in mehanizmov odpornosti gastrointestinalnih stromalnih tumorjev.

Organism	Človek
Tissue	Metastatski
Disease	Gastrointestinalni stromalni tumor
Metastatic site	Plevralni izliv
Synonyms	GIST-T-1, GISTT1, T1

Značilnosti

Age	47 let
Gender	Ženske

Celice GIST-T1 | 305777**Ethnicity** Japonski**Cell type** Cajalova intersticialna celica**Growth properties** Pripadajoče**Regulativni podatki****Citation** GIST-T1 (kataloška številka Cytion 305777)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_4976**Biomolekularni podatki****Mutational profile** Mutacija: KIT, preprosta, p.Val560_Tyr578del (c.1679_1735del), heterozigotna**Ravnanje s spletno stranjo****Culture Medium** RPMI 1640, w: 2,0 mM stabilnega glutamina, w: 2,0 g/L NaHCO₃ (številka izdelka Cytion 820700a)**Supplements** Gojišče dopolnite z 10 % FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Doubling time** 48 ur**Seeding density** 1 do 4×10^4 celic/cm²**Fluid renewal** 2 do 3-krat na teden

Celice GIST-T1 | 305777

Freeze medium

Kot gojišče za kriokonzervacijo uporabljamo popolno rastno gojišče (vključno s FBS) + 10 % DMSO za ustrezno vitalnost po odmrznitvi ali CM-1 (kataloška številka 800100 podjetja Cytion), ki vključuje optimizirane osmoprotektante in presnovne stabilizatorje za izboljšanje okrevanja in zmanjšanje stresa, povzročenga s kriom.

Thawing and Culturing Cells

1. Prepričajte se, da je viala ob dostavi globoko zamrznjena, saj se celice pošiljajo na suhem ledu, da se med prevozom ohranijo optimalne temperature.
2. Po prejemu kriovial takoj shranite pri temperaturi pod $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, da zagotovite ohranitev celične celovitosti, ali pa nadaljujte s korakom 3, če je potrebno takojšnje gojenje.
3. Za takojšnje gojenje vialo hitro odtalite tako, da jo potopite v vodno kopel s čisto vodo in protimikrobnim sredstvom pri $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ ter 40-60 sekund nežno mešate, dokler ne ostane majhen ledeni kepica.
4. Vse nadaljnje korake izvajajte v sterilnih pogojih v pretočni nape, pred odprtjem pa kriovial razkužite s 70 % etanolom.
5. Previdno odprite razkuženo vialo in celično suspenzijo prenesite v 15-mililitrsko centrifugirno epruveto, ki vsebuje 8 ml gojišča sobne temperature, ter nežno premešajte.
6. Mešanico centrifugirajte pri $300 \times g$ 3 minute, da ločite celice, in previdno zavržite supernatant, ki vsebuje ostanke zamrzovalnega gojišča.
7. Pelet celic nežno ponovno suspendirajte v 10 ml svežega gojišča. Pri adherentnih celicah suspenzijo razdelite med dve bučki T25; pri suspenzijskih kulturah prenesite vse gojišče v eno bučko T25, da spodbudite učinkovito interakcijo in rast celic.
8. Upoštevajte uveljavljene protokole subkultur za nadaljnjo rast in vzdrževanje celične linije ter tako zagotovite zanesljive rezultate poskusov.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5 % CO_2 , vlažno ozračje.

Shipping Conditions

Kriokonzervirane celične linije se pošiljajo na suhem ledu v potrjeni, izolirani embalaži z zadostno količino hladilnega sredstva, da se med prevozom vzdržuje približno $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Ob prejemu takoj preglejte embalažo in vialo nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.

Celice GIST-T1 | 305777

Storage Conditions

Za dolgotrajno shranjevanje vial postavite v tekoči dušik v parni fazi pri približno -150 do -196 °C. Shranjevanje pri -80 °C je sprejemljivo le kot kratek vmesni korak pred prenosom v tekoči dušik.

Nadzor kakovosti / Genetski profil / HLA

Sterility

Kontaminacija z mikoplazmo se izključi z uporabo testov na podlagi PCR in metod za odkrivanje mikoplazme na podlagi luminiscence.

Da se zagotovi, da ni kontaminacije z bakterijami, glivami ali kvasovkami, se celične kulture dnevno vizualno pregledujejo.