



凍結株化細胞製品

# GIST-T1 細胞

## 【 GIST-T1 cell line, Code No.GIST01C 】

本製品は研究目的にのみご使用になれます。

2017年9月11日改訂

### I. 製品概要

GIST（消化管間質腫瘍；gastrointestinal stromal tumor）とは、食道・胃・小腸・大腸などの消化管の壁にできる腫瘍で、「粘膜下腫瘍」を構成する腫瘍の一種と言われており、粘膜から発生する胃がんや大腸がんとは異なる性質を示します。消化管壁の下にある筋肉層の特殊な細胞（カハール介在細胞）の異常増殖により発生すると考えられています。

GIST-T1は、高知大学大学院総合人間自然科学研究科 田口 尚弘 准教授により、ヒトのGIST組織から樹立された新規の株化細胞となります。がん研究を始め、種々の研究にご利用ください。

### II. 使用前注意事項

本マニュアルを使用前に必ずご確認ください。

本製品はすべて【無菌操作】で実施して下さい。

本製品の培養には別売の専用メディアをご使用下さい。

本製品はマイコプラズマ、HBV、HCV、HIV、HTLV、梅毒陰性確認済みです。

#### ～ヒト由来細胞の安全性について～

実施している感染症検査については本データシートに記載しておりますが、すべての感染症検査を実施しているわけではなく、また偽陰性や感染の可能性を完全に除くことはできないため、取扱の際には、感染の危険性を十分に考慮し、安全キャビネットの使用や感染防護の手袋やゴーグル・マスクの着用等の十分な対策を講じた上で、実験にご使用下さい。

また、取扱や廃棄に関しては所属や使用する施設の規定に従ってください。

### III. 製品の保証について

細胞を液体窒素にて正しく保存し、専用メディア及び試薬を用いてマニュアル通りに培養された場合のみ、培養開始後の増殖不良に関して保証致します。

当社、製品サポート（メール：[primarycell@cosmobio.co.jp](mailto:primarycell@cosmobio.co.jp)）までご連絡下さい。

保証期限は【製品お受け取りから6ヶ月以内】です。

メディアや使用方法に変更を加えられた場合や、再凍結した細胞を使用された場合は、保証の対象になりませんのでご注意ください。

### IV. 製品構成

構成	容量	本数	保存方法	有効期限
GIST-T1 (凍結細胞)	1×10 <sup>6</sup> cells/vial	1本	液体窒素保存	6ヶ月

※受け取り後、直ちにご使用にならない場合は凍結細胞を液体窒素（または-70℃以下）にて保存してください

※本製品に関し、国立大学法人高知大学及び株式会社テクノネットワーク四国とのライセンス契約に基づき、細胞の第三者への提供（分配、貸与、譲渡、使用許可等）を禁止します。



## V. 細胞の由来

ヒト組織由来 (Woman、Japanese)

## VI. 専用メディアム(別売)

品名	品番	容量	保存方法	有効期限
GIST-T1 用メディアム	GISTM	500 mL	−20°C保存 (解凍後は 4°C保存)	ボトル記載(−20°C保存) 解凍後 3ヶ月(4°C保存)
GIST-T1 用培養メディアム (抗生素質不含)	GISTMA	500 mL	−20°C保存 (解凍後は 4°C保存)	ボトル記載(−20°C保存) 解凍後 3ヶ月(4°C保存)

培地の主成分 : DMEM、血清、抗生素、その他

## VII. 操作方法

※本製品は【継代可能】です。

### 細胞解凍・播種

※下記は、100 mm dish で培養する場合のプロトコールになります。

#### 【準備するもの】

- ・細胞培養用 100mm dish
- ・GIST-T1 用メディアム

1. 凍結細胞のバイアルを、37°C温水にて 2 分間加温して解凍してください。
2. 解凍した細胞液は、予め室温に戻したメディアム 10 mL が入っている 50 mL 遠沈管に移し混和した後、遠沈管内のメディアムを 1 mL 分取し、バイアルを共洗いして細胞液を回収してください。
3. 細胞懸濁液を全量、細胞培養用 100mm dish (播種密度 : 約  $9 \times 10^4$  cells/cm<sup>2</sup>) に播種し、5%CO<sub>2</sub> 存在下の 37°Cインキュベーターで培養してください。
4. 細胞解凍後、遠心洗浄による細胞へのダメージは、細胞凍結液の残存によるダメージよりも大きく、細胞の接着や増殖が悪くなることがありますので、遠心洗浄を行わないで播種されることをお勧め致します。
5. 培地交換は 37°Cに加温したメディアムを用いて、播種後翌日に 1 回、その後は 1 週間に 2、3 回の頻度でおこなってください。
6. 播種してから 4~7 日後に 70~90%コンフルエントになります。

### 細胞継代

#### 【準備するもの】

- ・70~90%コンフルエントになった細胞
- ・HBSS(-)もしくは PBS(-)
- ・0.25%Trypsin
- ・GIST-T1 用メディアム

1. 70~90%コンフルエントになった細胞を CO<sub>2</sub> インキュベーターから取り出して下さい。
2. 上清を吸引除去し、HBSS(-)もしくは PBS(-)を 10mL/100mm dish 添加し、ディッシュを洗浄して下さい。
3. HBSS(-)もしくは PBS(-)を吸引除去し、0.25%Trypsin を 1mL/100mm dish で添加して下さい。
4. 37°Cの CO<sub>2</sub> インキュベーターに約 4~6 分静置します

※トリプシンは細胞を損傷するため、剥離度合いを顕微鏡下で観察しながら、ほぼ全ての細胞が剥



離したら速やかに次の処理に移って下さい。

5. 37°Cに加温したメディウムを 10mL 添加してください。
6. 穏やかにピペッティングを行った後、細胞懸濁液を 50mL 遠沈管に回収してください。
7. 細胞懸濁液を 4°C、200 ×g で 5 分間遠心し、遠心後上清を吸引除去して下さい。
8. メディウムを 10mL 添加し、穏やかにピペッティングして再度細胞を懸濁させて下さい。
9. 細胞懸濁液とメディウムを 1 : 6~1 : 8 の割合で混合し、新しい培養容器に播種してください。
10. 5%CO<sub>2</sub> 存在下の 37°C インキュベーターで培養してください。細胞が 70~90% コンフルエントになった状態（参照：図 1、C）で同様に継代を行ってください。

#### 凍結ストックの調製

1. 細胞継代方法の 1~6 を行います。
2. 4°C、200 ×g、5 分間遠心後、上清を除去し、COS banker(KOJ 製品コード COS-CFM01) を 1×10<sup>6</sup> cells/mL になる様に加えて懸濁します。
3. 凍結保存用チューブに 1mL/チューブで分注し、細胞凍結用コンテナ(BM 機器 製品コード BCS-136 または 同等品)を用いて-80°Cで凍結保存します。
4. 1 日以上-80°Cにて静置後、液体窒素中に移してください。

#### VIII. 技術情報

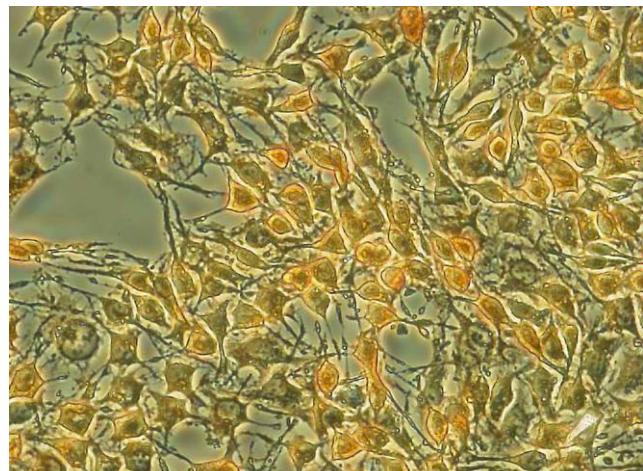
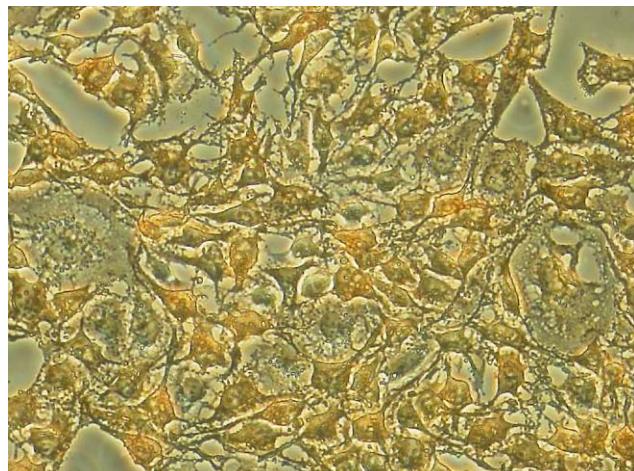
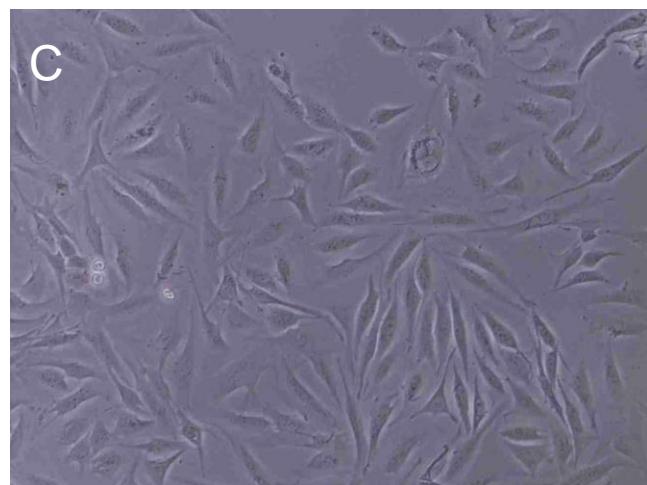


図1. 抗体染色及び位相差顕微鏡画像

- A. 抗 CD34 抗体染色
- B. 抗 c-kit 抗体染色
- C. 位相差顕微鏡画像





## IX. 参考文献

- 1) Takahiro Taguchi, Hiroshi Sonobe, and Kazunari Yuri. et al. Conventional and Molecular Cytogenetic Characterization of a New Human Cell Line, GIST-T1, Established from Gastrointestinal Stromal Tumor. *Lab Invest.* 2002 May;82(5):663-5.
- 2) Watabe K, Sakamoto T, Kawazoe Y, Michikawa M, Miyamoto K, Yamamura T, Saya H, Araki N. Tissue culture methods to study neurological disorders: Establishment of immortalized Schwann cells from murine disease models. *Neuropathology* 2003;23:64-74.

### 《本製品をご利用になられた文献、発表データ》

本製品をご利用いただきて投稿された論文、学会発表パネルなどを送付いただきましたお客様に粗品を進呈させていただきます。ご提供いただきました論文などは、WEB やカタログ、技術資料を通じて多くの研究者の方への技術情報として利用させていただく場合がございます。是非皆様のご協力をお願いいたします。

送付先 : 〒047-0261 北海道小樽市銭函 3 丁目 513 番 2  
コスモ・バイオ株式会社 札幌事業部 あて郵送  
または primarycell@cosmobio.co.jp あて PDF ファイル送信



〒135-0016 東京都江東区東陽 2-2-20 東陽駅前ビル  
URL : <http://www.cosmobio.co.jp/>

● 営業部 (お問い合わせ)  
TEL : (03) 5632-9610 FAX : (03) 5632-9619  
TEL : (03) 5632-9620

● 札幌事業部 (技術的なお問い合わせ)  
TEL : (0134) 61-2301 FAX : (0134) 61-2295  
E-mail : primarycell@cosmobio.co.jp  
URL : <http://www.primarycell.com/>