COSMO BIO CO., LTD.
Inspiration for Life Science

Product manual

For research use only. Not for clinical diagnosis.

Catalog No. GIST01C (Japan) PMC-GIST01C (Outside Japan)

GIST-T1 Cell Line

(Human Cell Line)

May 7, 2019

Principle

Gastrointestinal stromal tumors (GISTs) are one of the submucosal tumors; occur in the stomach, the small intestine and the esophagus, unlike most gastrointestinal tumors. GISTs are considered to arise from the interstitial cells of Cajal, the pacemaker cells of the gut.

The GIST-T1 is a cell line derived from GISTs of the stomach in a Japanese woman and established by Takahiro Taguchi; associate professor, Graduate School of Integrated Arts and Sciences, Kochi-University, Kochi, Japan.

Warranty

Cosmo Bio warrants that product (cells) will be viable until the expiration date and is valid only if the product is stored and cultured according to the information indicated in this product data sheet. Cosmo Bio has optimized the cell culture media formulation which is ideal for the product. While other, unspecified cell culture media may also produce satisfactory results, a change in cell culture media or the absence of an additive(s) from the recommended cell culture media may affect recovery, growth and/or function of the product. If an alternative cell culture medium formulation is used to culture the product, the Cosmo Bio warranty for cell viability is no longer valid.

Precautions

- Because of cells derived from human tissue, please always wear gloves and safety glasses when working them.
- Remove the cryovial from the dry ice packaging and immediately place into liquid nitrogen storage until use.
- Based on the license agreement of Techno network Shikoku and Kochi University, GIST-T1 cell is prohibited to provide (distribution, lending, transfer, licensing, etc.) to a third party.

Components

Product Name	Size	Quantity	Storage Conditions	Expiration date
GIST-T1, cryopreserved	$1.0x10^6$ cells/vial	1	Liquid Nitrogen vapor phase	6 months

***Shipping: dry ice**

Optimized Culture Medium (selling separately)

Catalog No.	Product Name	Size	Quantity	Storage Conditions	Expiration date
GISTM	GIST-T1 Culture Medium	500 mL	1	-20°C Freezer 4°C	- Written on the bottle (stored at -20°C) 3months after thawing (stored at 4°C)
GISTMA	GIST-T1 Culture medium (without antibiotics)	500 mL	1	-20°C Freezer 4°C	

Culture Medium components: DMEM, FBS, etc.

General Information

Organism	*Homo sapiens*, human
Tissue	Stomach
Cultural Properties	Adherent
Biosafety Level	1
Gender	Female
Ethnicity	Asian
Virus Check	HIV-1(-), HTLV-1(-), HBV(-), HCV(-), T.pallidum(-)
Quality Check	Mycoplasma (-)

Materials required but not provided

- ✧ Variable volume pipettes
- ✧ Culture vessels
- ✧ 0.25% Trypsin
- ✧ HBSS or PBS(-)

Protocol

A) Thawing of Cells

1) Prepare a 100mm dish (**Note:** 100mm dish is recommended).
2) Warm culture medium to 37°C.
3) Prepare a conical tube (for 15mL) added 10mL of culture medium.
4) Carefully remove the cryovial from liquid nitrogen and thaw cells in a water bath at 37°C for 120 seconds.
5) Transfer the cryovial into a laminar flow hood. Before opening, wipe the outside of the vial with 70% ethanol.
6) Gently transfer the thawed cell suspension (1mL) into 10 mL of culture medium.
7) Transfer 1mL of culture medium in the same conical tube back to the cryovial and pour the contents back to 15mL conical tube.
8) Transfer the cell suspension to 100mm dish and incubate the cells in 37°C, 5% CO_2 incubator.
   Note: Dilution and centrifugation of cells after thawing are not recommended since these actions are more harmful to the cells than the effect of residual DMSO in the culture.
9) Replace the medium with fresh pre-warmed culture medium every 2 to 3 days.

B) Subculturing Procedure

Note: Allow culture medium, HBSS(or PBS(-)), and 0.25% Trypsin to come to room temperature before use.

1) When the cells reach 70 -90% of confluent, they should be subcultured.
2) Aspirate the medium. Rinse the dish with 10mL of HBSS or PBS (-).
3) Add 1mL of 0.25% Trypsin, then incubate at 37°C for 4-6 minutes.
4) Add 10mL of culture medium and disperse the cells with gentle pipetting.
5) Transfer the cell suspension to conical tube and centrifuge at 200 ×g for 5 minutes at 4°C.
6) Aspirate the supernatant without disrupting the pellet and resuspend the cells in 10mL of culture medium.
7) Dilute the cell suspension by adding culture medium. A subcultivation ratio of 1:6 to 1:8 is recommended.
8) Transfer the cell suspension to new 100mm dish and Incubate the cells in 37°C, 5% CO_2 incubator.
9) Replace the medium with fresh pre-warmed culture medium every 2 to 3 days.
10) Culture the cells until the required density (70 -90% of confluent; Fig 1, C) is reached.

C) Freezing Procedure

1) Follow steps 1-6 [Subculturing Procedure] above.
2) Centrifuge the 50 mL tube at ~200 × g for 5 minutes at room temperature. Remove supernatant without disturbing the pelleted cells.
3) Resuspend cell pellet to ~1 × 10^6 cells/mL with cold COS Banker Cell Freezing Medium (Cosmo Bio Co., Ltd. Cat No. KOJ-COS-CFM01) or other standard DMSO-based freeze media.
4) Dispense aliquots of this cell suspension into cryogenic storage vials. Keep vials in cell freezing container (e.g.CoolCell®, Biocision). Store vials at -80℃ overnight.
5) Transfer the vials into gas phase above liquid nitrogen for long term storage.

Technical Information

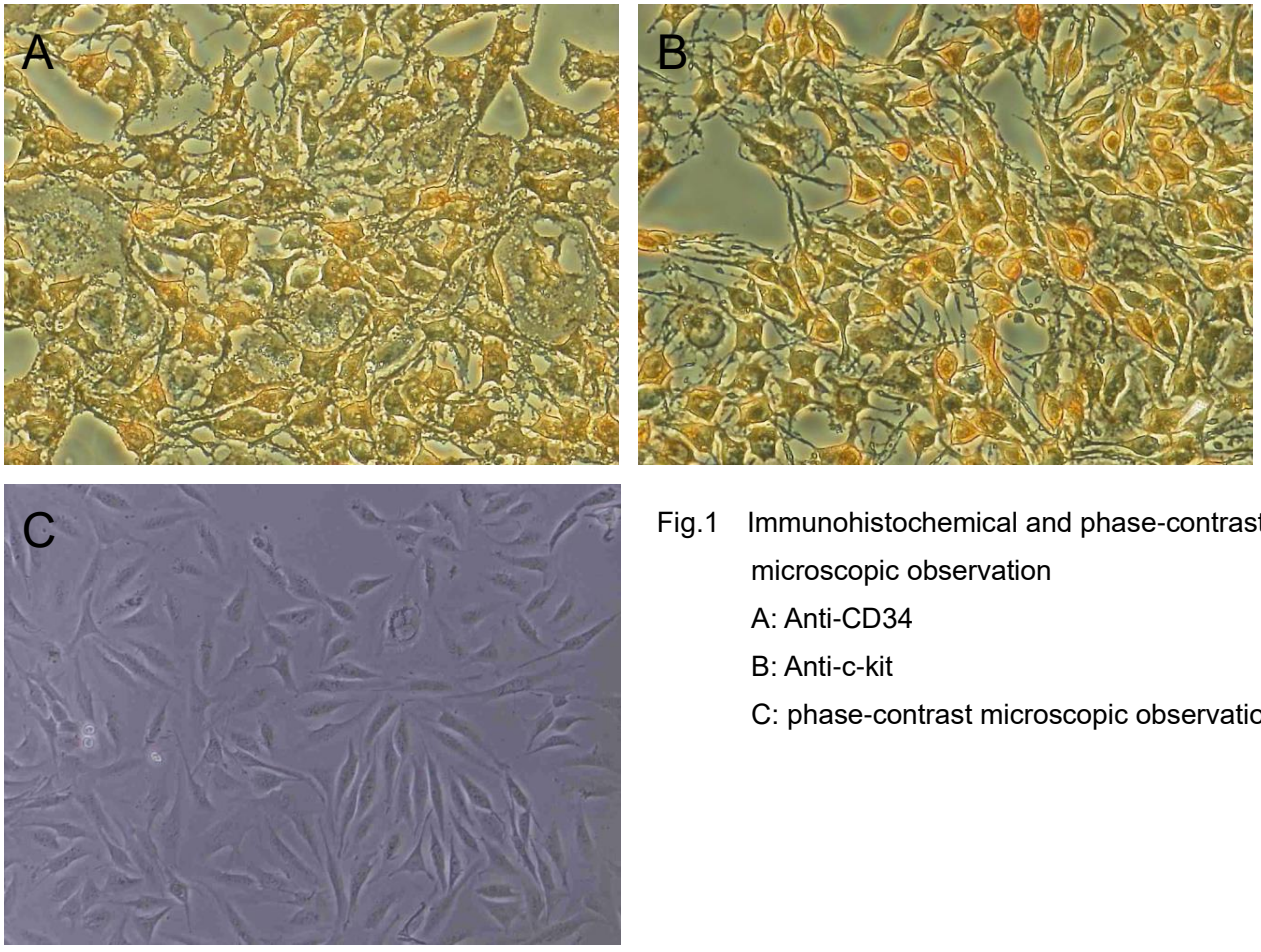

Fig.1 Immunohistochemical and phase-contrast microscopic observation
A: Anti-CD34
B: Anti-c-kit
C: phase-contrast microscopic observation

References

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.

COSMO BIO CO., LTD.

【JAPAN】
TOYO EKIMAE BLDG. 2-20, TOYO 2-CHOME,
KOTO-KU. TOKYO 135-0016, JAPAN
Phone: +81-3-5632-9610
FAX: +81-3-5632-9619
URL: https://www.cosmobio.co.jp/

COSMO BIO USA

【Outside Japan】
2792 Loker Ave West, Suite 101
Carlsbad, CA 92010, USA
e-mail: support@cosmobiousa.com
Phone/FAX: (+1) 760-431-4600
URL: www.cosmobiousa.com

For research use only. Not for clinical diagnosis.

COSMO BIO CO., LTD.
Inspiration for Life Science

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ウムをご使用下さい。
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、専用メディウム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）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。
メディウム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	保証期限
GIST-T1 （凍結細胞）	1×10^6cells/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. 専用メディウム（別売）

品名	品番	容量	保存方法	有効期限
GIST-T1 用メディウム	GISTM	500 mL	−20℃保存 (解凍後は 4℃保存)	ボトル記載(−20℃保存) 解凍後 3 ヶ月(4℃保存)
GIST-T1 用培養メディウム（抗生物質不含）	GISTMA	500 mL	−20℃保存 (解凍後は 4℃保存)	ボトル記載(−20℃保存) 解凍後 3 ヶ月(4℃保存)

培地の主成分：DMEM、血清、抗生剤、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 用メディウム

1. 凍結細胞のバイアルを、37℃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ウム 10 mL が入っている 50 mL 遠沈管に移し混和した後、遠沈管内のメディウムを 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 9×10^4cells/cm^2）に播種し、5%CO_2 存在下の 37℃インキュベーターで培養してください。

   ※解凍後の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。
4. 培地交換は 37℃に加温したメディウムを用いて、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。
5. 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 用メディウム

1. 70〜90%コンフルエントになった細胞を CO_2 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℃の CO_2 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℃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℃、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_2 存在下の 37℃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℃、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 1×10^6 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℃で凍結保存します。

4. 1日以上-80℃にて静置後、液体窒素中に移してください。

VIII. 技術情報

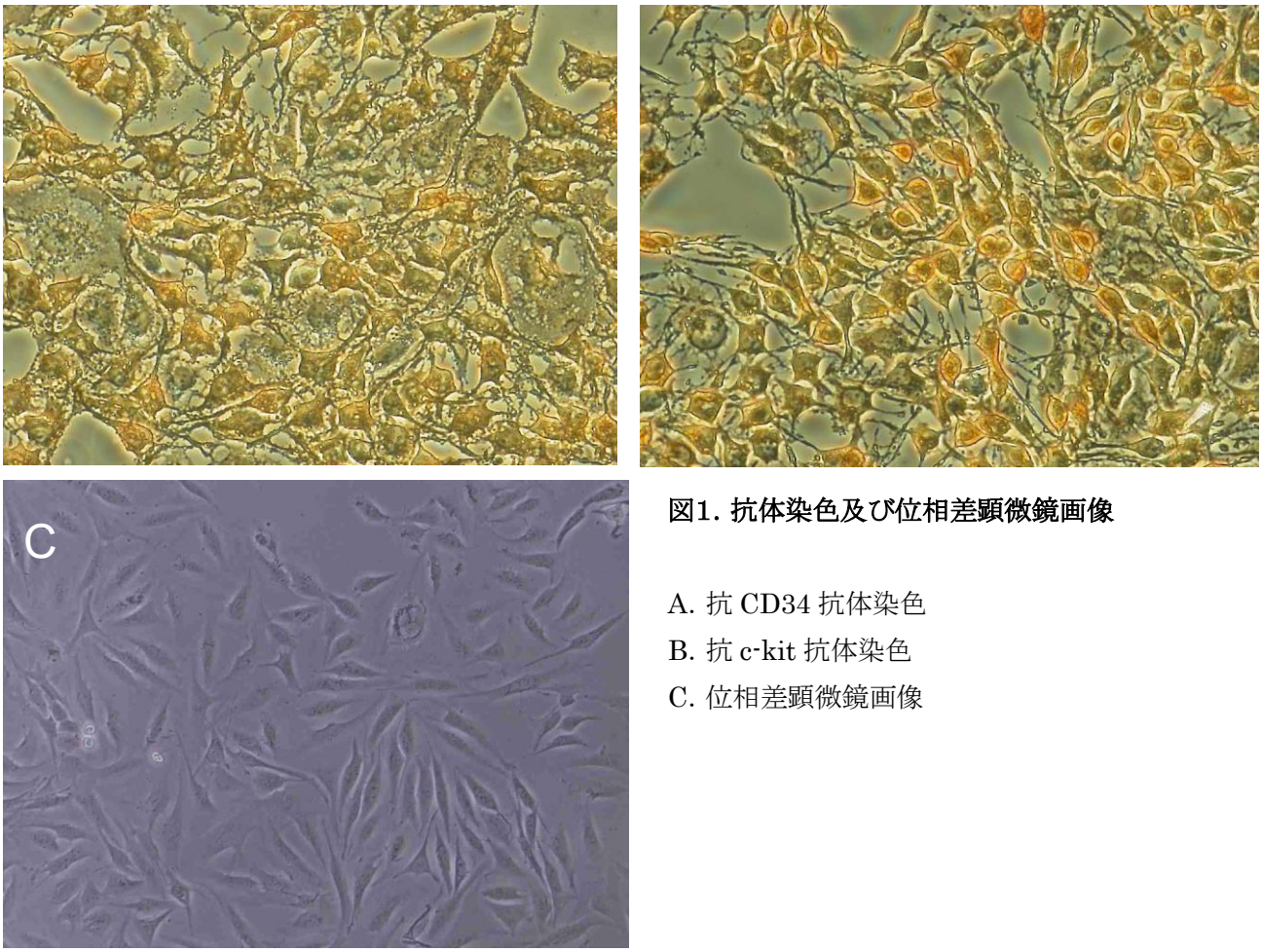

図1. 抗体染色及び位相差顕微鏡画像

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いて投稿された論文、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

コスモ・バイオ株式会社
COSMO BIO CO., LTD.

〒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/