Product sheet

MM.1S kennot | 305304

Yleisiä tietoja

Description	MM.1S-solulinja on osa MM.1-sarjaa, joka kehitettiin yhdestä multippelia myeloomaa (MM) sairastavasta potilaasta tutkimaan taudin etenemisen eri vaiheita ja vastetta glukokortikoidihoitoon (GC). MM.1S on erityisen herkkä glukokortikoideille, kuten deksametasonille, ja se toimii mallina GC:n aiheuttaman apoptoosin mekanismien tutkimiseen multippelin myelooman soluissa. Tämä herkkyys tekee MM.1S:stä ratkaisevan tärkeän välineen MM-hoidon varhaisvaiheiden ja GC-reaktiivisuuteen johtavien solupolkujen tutkimiseen. MM.1S-soluilla, kuten muillakin MM.1-soluilla, on tyypillinen myelooman morfologia, johon kuuluu pyöreitä soluja, joissa on eksentrisesti sijaitsevia tumia, joista monet ovat kaksitumaisia tai monitumaisia. Nämä solut ilmentävät plasmasoluille tyypillisiä merkkiaineita, kuten CD38 ja PCA-1, mutta niistä puuttuvat tyypilliset B-solujen merkkiaineet, kuten CD19 ja CD20, mikä kuvastaa niiden terminaalisesti erilaistunutta asemaa plasmasoluina. Niissä on myös runsaasti immunoglobuliini lambda (λ) -kevytketjun ilmentymää, mikä vastaa niiden alkuperää. Tämä solulinja on ollut elintärkeä tutkittaessa MM:n lääkeaineiden vaikutus-, resistenssi- ja apoptoosireittejä erityisesti GC-hoidon yhteydessä. Yksi MM.1S:n tärkeimmistä piirteistä on sen riippuvuus toimivista glukokortikoidireseptoreista (GR) lääkeherkkyyden kannalta. MM.1S:ssä luonnonvaraisen GR:n korkeat tasot mahdollistavat deksametasonin tehokkaan apoptoosin indusoimisen, mikä tarjoaa arvokkaan järjestelmän tämän prosessin taustalla olevien molekulaaristen tapahtumien tutkimiseen. Tätä linjaa verrataan usein sen resistenttiin vastineeseen, MM.1R:ään, jotta voidaan tutkia GC-resistenssin mekanismeja, mikä on kriittinen kysymys MM:n hoidossa. Yhdessä MM.1S-solulinja tarjoaa tietoa lääkeherkkyydestä, taudin etenemisestä ja multippelin myelooman mahdollisista hoitostrategioista.
Organism	Ihminen
Tissue	Perifeerinen veri
Disease	Multippeli myelooma
Synonyms	MM1.S, MM1-S, MM-1S, MM1S, MM1S

Ominaisuudet

Age	45 vuotta
Gender	Nainen
Ethnicity	Afroamerikkalainen
Morphology	Lymfoblastit
Cell type	B-solu

MM.1S kennot | 305304

Growth properties	Sekoitus: löyhästi kiinnittynyt monokerros ja suspensio

Sääntelytiedot

Citation	MM.1S (Cytionin luettelonumero 305304)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_8792

Biomolekyylitiedot

Products	IgA lambda
Mutational profile	Mutaatio: KRAS, p.Gly12Ala (c.35G>C), heterotsygoottinen: TRAF3, p.Val536_Asn545delValPheValAlaGlnThrValLeuGluAsninsAsp (c.1604-1630delTCTTTGTGGCCCAAACTGTTCTAGAAA), homotsygoottinen

Käsittely

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM stabiilia glutamiinia, w: 2,0 g/L NaHCO3 (Cytionin artikkelinumero 820700a)
Supplements	Täydennetään elatusainetta 10 % lämpöinaktivoidulla FBS:llä
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Kerää suspensiosolut 15 ml:n putkeen ja pese kiinni olevat solut varovasti PBS:llä, josta puuttuu kalsiumia ja magnesiumia (3-5 ml T25-pulloissa ja 5-10 ml T75-pulloissa). Levitä Accutasea (1-2 ml T25-pulloihin, 2,5 ml T75-pulloihin) varmistaen, että solukerros peittyy kokonaan. Anna solujen inkuboitua huoneenlämmössä 10 minuuttia. Inkuboinnin jälkeen yhdistetään ja sentrifugoidaan sekä suspensio että adherentit solut. Sentrifugoinnin jälkeen solupelletti suspendoidaan varovasti uudelleen ja siirretään solususpensio uusiin pulloihin, jotka sisältävät tuoretta väliaineita.
Freeze medium	Kryosäilytysmediana käytämme täydellistä kasvualustaa (mukaan lukien FBS) + 10 % DMSO:ta riittävän sulatuksen jälkeisen elinkelpoisuuden varmistamiseksi tai CM-1:tä (Cytionin luettelonumero 800100), joka sisältää optimoituja osmoprotectantteja ja metabolisia stabilisaattoreita, jotka parantavat elpymistä ja vähentävät kryosäilytyksen aiheuttamaa stressiä.

MM.1S kennot | 305304

Thawing and Culturing Cells

1. Varmista, että injektiopullo pysyy syväjäädytettynä toimitettaessa, sillä solut kuljetetaan kuivajäässä, jotta optimaalinen lämpötila säilyy kuljetuksen aikana.

2. Vastaanotettaessa kryopullo joko säilytetään välittömästi alle -150 °C:n lämpötilassa solujen eheyden säilyttämiseksi tai edetään vaiheeseen 3, jos tarvitaan välitöntä viljelyä.

3. Välitöntä viljelyä varten sulata injektiopullo nopeasti upottamalla se 37 °C:n vesihauteeseen, jossa on puhdasta vettä ja mikrobilääkettä, ja sekoittamalla sitä varovasti 40-60 sekunnin ajan, kunnes jäästä on jäljellä pieni jäämöhkäle.

4. Suorita kaikki seuraavat vaiheet steriileissä olosuhteissa virtaushupussa ja desinfioi kryopullo 70-prosenttisella etanolilla ennen avaamista.

5. Avaa desinfioitu injektiopullo varovasti ja siirrä solususpensio 15 ml:n sentrifugiputkeen, joka sisältää 8 ml huoneenlämpöistä elatusainetta, varovasti sekoittaen.

6. Sentrifugoi seosta 300 x g:n voimakkuudella 3 minuutin ajan solujen erottamiseksi ja hävitä varovasti supernatantti, joka sisältää jäännöspakastusmediumia.

7. Suspendoidaan solupelletti varovasti uudelleen 10 ml:aan tuoretta elatusainetta. Jos solut ovat tarttuvia, jaa suspensio kahden T25-kolvin kesken; jos kyseessä ovat suspensioviljelmät, siirrä kaikki väliaine yhteen T25-kolviin solujen tehokkaan vuorovaikutuksen ja kasvun edistämiseksi.

8. Noudata vakiintuneita aliviljelyprotokollia solulinjan jatkuvan kasvun ja ylläpidon varmistamiseksi ja luotettavien kokeellisten tulosten varmistamiseksi.

Incubation Atmosphere	37 °C, 5 % $_{CO2}$, kostutettu ilmakehä.
Flask Coating	Ei mitään
Freezing Procedure	Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäässä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.
Shipping Conditions	Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäässä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

Storage Conditions	Pitkäaikaissäilytystä varten injektiopullot asetetaan höyryfaasissa olevaan nestemäiseen typpeen noin -150 - -196 °C:een. Säilytys -80 °C:ssa on hyväksyttävää vain lyhyenä välivaiheena ennen siirtoa nestemäiseen typpeen.

Laadunvalvonta ja molekyylianalyysi

Sterility	Mykoplasmakontaminaatio suljetaan pois sekä PCR-pohjaisilla määrityksillä että luminesenssiin perustuvilla mykoplasman osoitusmenetelmillä. Bakteeri-, sieni- tai hiivakontaminaation välttämiseksi soluviljelmät tarkastetaan päivittäin silmämääräisesti.