Product sheet

AMO-1-solut | 305525

Yleisiä tietoja

Description	AMO-1-solulinja on pahanlaatuisesta plasmasolukasvaimesta johdettu multippelin myelooman malli. Sitä käytetään laajasti tutkimuksessa, jossa selvitetään lääkeherkkyyden, apoptoosin ja kasvainsolujen signalointimekanismeja myeloomassa. AMO-1-solut ovat herkkiä erilaisille kemoterapeuttisille aineille ja kohdennetuille hoidoille, kuten proteasomin estäjille ja tyrosiinikinaasin estäjille, joista on tullut keskeisiä monimyelooman hoidossa. Tutkimukset ovat osoittaneet, että pernan tyrosiinikinaasi (Syk)-estäjillä annettu hoito aiheuttaa merkittäviä solujen lisääntymistä estäviä ja apoptoosia edistäviä vaikutuksia AMO-1-soluissa. Tämä vaikutus tapahtuu keskeisten signalointireittien, kuten MAPK:n ja NF-kappaB:n, estämisen kautta, ja sille on ominaista sytokromi c:n lisääntynyt vapautuminen sekä apoptoosimarkkerien, kuten kaspaasi-3:n ja PARP-1:n, aktivoituminen. Lisäksi Syk:n estäminen vähentää solujen migraatiota ja vuorovaikutusta luuytimen stromaalisten komponenttien kanssa, mikä rajoittaa entisestään myeloomasolujen selviytymistä. AMO-1-solut ovat osoittaneet herkkyyttä myös Notch3-p53-akseliin kohdistuville luonnollisille yhdisteille, kuten sofokarpiinijohdannaisille. Nämä yhdisteet vähentävät solujen elinkelpoisuutta säätelemällä alaspäin apoptoosia estäviä proteiineja (esim. Bcl-2) ja säätelemällä ylöspäin apoptoosia edistäviä tekijöitä (esim. Bax ja pilkottu kaspaasi-3). Lisäksi sofokarpiinihoito vähentää Notch3:n ilmentymistä, joka on myelooman ja muiden syöpien etenemiseen liittyvä signalointireitti. Tämä tekee AMO-1-soluista tehokkaan mallin sellaisten lääkkeiden testaamiseen, joiden tarkoituksena on muokata Notch-signalointia ja p53:n välittämiä apoptoottisia reittejä. Immunoterapian yhteydessä γδ-T-solut tunnistavat AMO-1-solut solujen välisen adheesiomolekyylin 1 (ICAM-1) ilmentymisen kautta, ja transfektio ICAM-1:n ilmentymisen lisäämiseksi parantaa niiden alttiutta T-soluvälitteiselle hajoamiselle. Tämä ominaisuus tukee myeloomaan kohdistuvien immunoterapioiden tutkimusta vaihtoehtoisena lähestymistapana hoitoresistenteille tapauksille.
Organism	Ihminen
Tissue	Askites
Disease	Multippeli myelooma
Synonyms	AMo1, AMO1

Ominaisuudet

Age	64 vuotta
Gender	Nainen
Ethnicity	Japanilainen
Morphology	Pyöreät kennot
Growth properties	Jousitus

AMO-1-solut | 305525

Sääntelytiedot

Citation	AMO-1 (Cytionin tuotenumero 305525)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_1806

Biomolekyylitiedot

Mutational profile	Geenifuusio: IGKV1-8-IGKJ1; Geenifuusio: IGKV3-20-IGKJ2; Mutaatio: BCOR, p.Gln312del (c.932_934AGC[1]) (c.935_937delAGC), heterotsygoottinen; Mutaatio: KRAS, p.Ala146Thr (c.436G>A), heterotsygoottinen; Mutaatio: STAT3, p.Cys712Tyr (c.2135G>A), heterotsygoottinen; Mutaatio: TET2, p.Gln1699Ter (c.5095C>T), heterotsygootti

Käsittely

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM stabiilia glutamiinia, w: 2,0 g/L NaHCO3 (Cytionin artikkelinumero 820700a)
Supplements	Täydennetään elatusainetta 20 %:lla FBS:llä
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.
Seeding density	3–5 × 10^5/ml
Fluid renewal	2-3 kertaa viikossa
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.

AMO-1-solut | 305525

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.
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.