Product sheet

AMO-1 sejtek | 305525

Általános információk

Description	Az AMO-1 sejtvonal egy rosszindulatú plazmasejt-daganatból származó multiplex mielóma-modell. Széles körben alkalmazzák a mielómában fellépő gyógyszerérzékenység, az apoptózis és a tumorsejtek jelátvitelének mechanizmusait vizsgáló kutatásokban. Az AMO-1 sejtek érzékenyek különböző kemoterápiás szerekre és célzott kezelésekre, például a proteaszom-gátlókra és a tirozin-kináz-gátlókra, amelyek kulcsfontosságúvá váltak a myeloma kezelésében. Tanulmányok kimutatták, hogy a lép-tirozin-kináz (Syk) gátlókkal végzett kezelés jelentős antiproliferatív és proapoptotikus hatásokat vált ki az AMO-1 sejtekben. Ez a hatás a kritikus jelátviteli útvonalak – többek között a MAPK és az NF-kappaB – gátlásán keresztül valósul meg, és a citokróm c fokozott felszabadulásával, valamint az apoptotikus markerek, például a kaszpáz-3 és a PARP-1 aktiválódásával jellemezhető. Ezen felül a Syk gátlása csökkenti a sejtek vándorlását és a csontvelő stromális komponenseivel való kölcsönhatását, ami tovább korlátozza a mielóma sejtek túlélését. Az AMO-1 sejtek érzékenységet mutattak a Notch3-p53 tengelyt célzó természetes vegyületekre is, például a szofokarpin-származékokra. Ezek a vegyületek az anti-apoptotikus fehérjék (pl. a Bcl-2) expressziójának csökkentése és a pro-apoptotikus faktorok (pl. a Bax és a hasított kaszpáz-3) expressziójának fokozása révén csökkentik a sejtek életképességét. Ezen felül a szofokarpin-kezelés csökkenti a Notch3-expressziót, amely a mielóma és más rákos megbetegedésekben a tumorprogresszióhoz kapcsolódó jelátviteli út. Ez az AMO-1-et hatékony modellé teszi a Notch-jelátvitelt és a p53 által közvetített apoptotikus útvonalakat módosító gyógyszerek tesztelésére. Az immunterápia összefüggésében az AMO-1 sejteket a γδ T-sejtek az intercelluláris adhéziós molekula-1 (ICAM-1) expressziója révén ismerik fel, és az ICAM-1 expressziót növelő transzfekció fokozza azok érzékenységét a T-sejtek által közvetített lízisre. Ez a tulajdonság alátámasztja a mielómára irányuló immunterápiák kutatását, mint alternatív megközelítést a kezelésre rezisztens esetek kezeléséhez.
Organism	Emberi
Tissue	Ascites
Disease	Myeloma multiplex
Synonyms	AMo1, AMO1

Jellemzők

Age	64 év
Gender	Női
Ethnicity	Japán
Morphology	Kerek cellák
Growth properties	Felfüggesztés

AMO-1 sejtek | 305525

Szabályozási adatok

Citation	AMO-1 (Cytion katalógusszám: 305525)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_1806

Biomolekuláris adatok

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

A kezelése

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM stabil glutamin, w: 2,0 g/L NaHCO3 (Cytion 820700a cikkszám)
Supplements	A táptalajt 20% FBS-szel egészítsük ki
Subculturing	Gyűjtse össze a szuszpenziós sejteket egy 15 ml-es csőbe, és óvatosan mossa át a megtapadt sejteket kalciumot és magnéziumot nem tartalmazó PBS-szel (T25 lombik esetén 3-5 ml-t, T75 lombik esetén 5-10 ml-t használjon). Vigyen fel Accutase-t (1-2 ml-t T25 lombikokhoz, 2,5 ml-t T75 lombikokhoz), biztosítva a sejtréteg teljes lefedettségét. Hagyjuk a sejteket 10 percig szobahőmérsékleten inkubálni. Az inkubációt követően egyesítsük és centrifugáljuk a szuszpenziót és az adhezív sejteket. A centrifugálás után óvatosan reszuszpendáljuk a sejtpelletet, és a sejtszuszpenziót helyezzük át friss tápfolyadékot tartalmazó új lombikokba.
Seeding density	3–5 × 10^5/ml
Fluid renewal	hetente 2-3 alkalommal
Freeze medium	Krioprezerváló táptalajként teljes növekedési táptalajt (beleértve az FBS-t) + 10% DMSO-t használunk a megfelelő kiolvasztás utáni életképesség érdekében, vagy CM-1-et (Cytion katalógusszám: 800100), amely optimalizált ozmoprotektánsokat és metabolikus stabilizátorokat tartalmaz a regenerálódás fokozása és a krio-indukált stressz csökkentése érdekében.

AMO-1 sejtek | 305525

Thawing and Culturing Cells

1. Ellenőrizze, hogy az injekciós üveg a szállításkor mélyhűtött marad-e, mivel a sejteket szárazjégen szállítják, hogy a szállítás során az optimális hőmérsékletet fenntartsák.
2. Átvételt követően vagy azonnal tárolja a krioampullát -150 °C alatti hőmérsékleten a sejtek integritásának megőrzése érdekében, vagy folytassa a 3. lépéssel, ha azonnali tenyésztésre van szükség.
3. Azonnali tenyésztés esetén gyorsan fel kell olvasztani az injekciós üveget úgy, hogy tiszta vízzel és antimikrobiális szerrel ellátott 37 °C-os vízfürdőbe merítjük, és 40-60 másodpercig óvatosan kevergetjük, amíg egy kis jégcsomó nem marad.
4. Az összes további lépést steril körülmények között, áramlásos elszívóban végezzük el, és nyitás előtt fertőtlenítsük a kriofülkét 70%-os etanollal.
5. Óvatosan nyissa fel a fertőtlenített fiolát, és a sejtszuszpenziót óvatosan összekeverve helyezze át egy 15 ml-es centrifugacsőbe, amely 8 ml szobahőmérsékletű táptalajt tartalmaz.
6. Centrifugáljuk az elegyet 300 x g-n 3 percig a sejtek szétválasztásához, és óvatosan dobjuk el a maradék fagyasztóközeget tartalmazó felülúszót.
7. Óvatosan szuszpendáljuk újra a sejtpelletet 10 ml friss táptalajban. Adhezív sejtek esetében ossza a szuszpenziót két T25-ös tenyésztőlombik között; szuszpenziós kultúrák esetében az összes tápfolyadékot tegye át egy T25-ös lombikba a hatékony sejtkölcsönhatás és növekedés elősegítése érdekében.
8. A sejtvonal folyamatos növekedése és fenntartása érdekében tartsa be a megállapított szubkultúra protokollokat, biztosítva a megbízható kísérleti eredményeket.

Incubation Atmosphere

37°C, 5%$_{CO2}$, párásított légkör.

Shipping Conditions

A kriokonzervált sejtvonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül -78 °C-on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

Storage Conditions

Hosszú távú tartósítás céljából helyezze az üvegeket gőzfázisú folyékony nitrogénbe, körülbelül -150 és -196 °C közötti hőmérsékleten. A -80 °C-on történő tárolás csak rövid átmeneti lépésként fogadható el a folyékony nitrogénbe való átvitel előtt.

Minőségellenőrzés és molekuláris elemzés

AMO-1 sejtek | 305525

Sterility	A mikoplazma-szennyeződést mind a PCR-alapú vizsgálatokkal, mind a lumineszcencia-alapú mikoplazma-kimutatási módszerekkel kizárják. A bakteriális, gombás vagy élesztőgombás szennyeződés elkerülése érdekében a sejtkultúrákat napi vizuális ellenőrzésnek vetik alá.