Product sheet

AMO-1 šūnas | 305525

Vispārīga informācija

Description	AMO-1 šūnu līnija ir daudzkārtējās mielomas modelis, kas iegūts no ļaundabīga plazmas šūnu audzēja. To plaši izmanto pētījumos, kuros izpēta zāļu jutības mehānismus, apoptozi un audzēja šūnu signālu pārraidi mielomā. AMO-1 šūnas ir jutīgas pret dažādiem ķīmijterapijas līdzekļiem un mērķtiecīgām ārstēšanas metodēm, piemēram, proteasomu inhibitoriem un tirozīna kināzes inhibitoriem, kuriem ir kļuvusi izšķiroša nozīme daudzkārtējās mielomas terapijā. Pētījumi ir pierādījuši, ka ārstēšana ar liesas tirozīna kināzes (Syk) inhibitoriem izraisa ievērojamu antiproliferatīvu un proapoptotisku iedarbību AMO-1 šūnās. Šī iedarbība notiek, inhibējot kritiskos signālu pārraides ceļus, tostarp MAPK un NF-kappaB, un to raksturo palielināta citohroma c atbrīvošanās un tādu apoptozes marķieru kā kaspāze-3 un PARP-1 aktivācija. Turklāt Syk inhibīcija samazina šūnu migrāciju un mijiedarbību ar kaulu smadzeņu stromas komponentiem, tādējādi vēl vairāk ierobežojot mielomas šūnu izdzīvošanu. AMO-1 šūnas ir parādījušas jutību arī pret dabīgiem savienojumiem, kas iedarbojas uz Notch3-p53 asi, piemēram, sofokarpīna atvasinājumiem. Šie savienojumi samazina šūnu dzīvotspēju, samazinot anti-apoptozes proteīnu (piem., Bcl-2) ekspresiju un palielinot pro-apoptozes faktoru (piem., Bax un sašķeltā kazeāzes-3) ekspresiju. Turklāt ārstēšana ar sofokarpīnu samazina Notch3 ekspresiju — signālceļu, kas saistīts ar audzēja progresēšanu mielomā un citos vēža veidos. Tas padara AMO-1 par efektīvu modeli zāļu testēšanai, kuru mērķis ir modificēt Notch signālceļu un p53 mediētos apoptozes ceļus. Imunoterapijas kontekstā AMO-1 šūnas atpazīst γδ T šūnas, pateicoties starpšūnu adhezijas molekulas-1 (ICAM-1) ekspresijai, un transfekcija, kas palielina ICAM-1 ekspresiju, pastiprina to uzņēmību pret T šūnu mediētu līzi. Šī īpašība veicina pētījumus par imūnterapijām, kas vērstas pret mielomu, kā alternatīvu pieeju ārstēšanai rezistentiem gadījumiem.
Organism	Cilvēks
Tissue	Ascīts
Disease	Multiplā mieloma
Synonyms	AMo1, AMO1

Raksturojums

Age	64 gadi
Gender	Sievietes
Ethnicity	Japāņu
Morphology	Apaļas šūnas
Growth properties	Apturēšana

AMO-1 šūnas | 305525

Normatīvie dati

Citation	AMO-1 (Cytion kataloga numurs 305525)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_1806

Biomolekulārie dati

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

Darbs ar

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM stabils glutamīns, w: 2,0 g/L NaHCO3 (Cytion izstrādājuma numurs 820700a)
Supplements	Papildināt barotni ar 20% FBS
Subculturing	Savāc suspensijas šūnas 15 ml mēģenē un saudzīgi izmazgā pielipušās šūnas ar PBS bez kalcija un magnija (T25 kolbām izmanto 3-5 ml, bet T75 kolbām - 5-10 ml). Uzklājiet Accutase (1-2 ml T25 kolbām, 2,5 ml T75 kolbām), nodrošinot pilnīgu šūnu slāņa pārklājumu. Ļaujiet šūnām inkubēties istabas temperatūrā 10 minūtes. Pēc inkubācijas apvienot un centrifugēt gan suspensiju, gan pielipušās šūnas. Pēc centrifugēšanas uzmanīgi resuspendēt šūnu granulas un pārvietot šūnu suspensiju jaunās kolbās ar svaigu barotni.
Seeding density	3–5 × 10^5/ml
Fluid renewal	2 līdz 3 reizes nedēļā
Freeze medium	Kā kriokonservēšanas barotni mēs izmantojam pilnvērtīgu augšanas barotni (ieskaitot FBS) + 10 % DMSO, lai nodrošinātu pietiekamu dzīvotspēju pēc atkausēšanas, vai CM-1 (Cytion kataloga numurs 800100), kas ietver optimizētus osmoprotektorus un metaboliskos stabilizatorus, lai uzlabotu atveseļošanos un samazinātu krioinducēto stresu.

AMO-1 šūnas | 305525

Thawing and Culturing Cells	1. Pārliecinieties, ka pēc piegādes flakons paliek dziļi sasaldēts, jo šūnas tiek sūtītas uz sausā ledus, lai pārvadāšanas laikā saglabātu optimālu temperatūru. 2. Pēc saņemšanas vai nu nekavējoties uzglabāt kriovialu temperatūrā, kas zemāka par -150 °C, lai nodrošinātu šūnu integritātes saglabāšanu, vai arī turpināt 3. posmu, ja nepieciešama tūlītēja kultivēšana. 3. Tūlītējas kultivēšanas gadījumā ātri atkausējiet flakonu, iegremdējot to 37°C ūdens vannā ar tīru ūdeni un antibakteriālu līdzekli, viegli maisot 40-60 sekundes, līdz paliek neliels ledus gabaliņš. 4. Visas turpmākās darbības veiciet sterilos apstākļos plūsmas nosūcējā, pirms atvēršanas dezinficējot kriovialu ar 70% etanolu. 5. Uzmanīgi atveriet dezinficēto flakonu un pārnesiet šūnu suspensiju 15 ml centrifūgas mēģenē, kurā ir 8 ml istabas temperatūras barotnes, uzmanīgi samaisot. 6. Centrifugējiet maisījumu ar 300 x g 3 minūtes, lai atdalītu šūnas, un uzmanīgi izmetiet virskārtu, kas satur saldēšanas barotnes atlikumus. 7. Viegli resuspendēt šūnu granulas 10 ml svaigas barotnes. Adhēzijas šūnu gadījumā suspensiju sadalīt divās T25 kolbās; suspensijas kultūrām visu barotni pārnest vienā T25 kolbā, lai veicinātu efektīvu šūnu mijiedarbību un augšanu. 8. Ievērojiet noteiktos subkultūru protokolus, lai nodrošinātu nepārtrauktu šūnu līnijas augšanu un uzturēšanu, tādējādi nodrošinot uzticamus eksperimentu rezultātus.
Incubation Atmosphere	37°C, 5% $_{CO2}$, mitrināta atmosfēra.
Shipping Conditions	Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidruma daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.
Storage Conditions	Ilgstošai uzglabāšanai flakonus ievietojiet šķidrā slāpeklī ar tvaika fāzi aptuveni -150 līdz -196 °C temperatūrā. Uzglabāšana -80 °C temperatūrā ir pieļaujama tikai kā īss starpposms pirms pārvietošanas uz šķidro slāpekli.

Kvalitātes kontrole un molekulārā analīze

Sterility	Mikoplazmas piesārņojums tiek izslēgts, izmantojot gan uz PCR balstītus testus, gan uz luminiscenci balstītas mikoplazmas noteikšanas metodes. Lai pārliecinātos, ka nav baktēriju, sēnīšu vai rauga piesārņojuma, šūnu kultūras katru dienu vizuāli pārbauda.