

Клетки MM.1S | 305304

Обща информация

Description

Клетъчната линия MM.1S е част от серията MM.1, която е разработена от един пациент с множествен миелом (ММ) за изследване на различни етапи от развитието на заболяването и отговора към терапията с глюкокортикоиди (ГК). MM.1S е специфично чувствителна към глюкокортикоиди, като например дексаметазон, и служи като модел за изследване на механизмите на индуцираната от ГК апоптоза в клетките на множествения миелом. Тази чувствителност превръща MM.1S в изключително важен инструмент за изучаване на ранните фази на лечението на ММ и на клетъчните пътища, водещи до реактивност към ГК.

Клетките MM.1S, както и другите линии MM.1, показват типична миеломна морфология, включваща кръгли клетки с ексцентрично разположени ядра, много от които са двуйдрени или многоядрени. Тези клетки експресират характерни маркери за плазматични клетки, като CD38 и PCA-1, като същевременно липсват типични маркери за В-клетки, като CD19 и CD20, което отразява терминално диференцирания им статус на плазматични клетки. Те също така показват високи нива на експресия на леката верига на имуноглобулин ламбда (λ), което съответства на техния произход. Тази клетъчна линия е от съществено значение за изследване на пътищата на лекарствено действие, резистентност и апоптоза при ММ, особено в контекста на лечението с ГК.

Една от ключовите характеристики на MM.1S е зависимостта ѝ от функционални глюкокортикоидни рецептори (GR) за реакцията ѝ към лекарства. В MM.1S високите нива на GR от див тип позволяват на дексаметазон да индуцира ефективно апоптоза, което предоставя ценна система за изучаване на молекулярните събития, лежащи в основата на този процес. Тази линия често се сравнява с нейния резистентен аналог, MM.1R, за да се изследват механизмите на резистентност към ГК - критичен въпрос при лечението на ММ. Заедно с това клетъчната линия MM.1S предлага прозрения за чувствителността към лекарства, прогресията на заболяването и потенциалните терапевтични стратегии за множествен миелом.

Organism

Човек

Tissue

Периферна кръв

Disease

Множествен миелом

Synonyms

MM1.S, MM1-S, MM-1S, MM1S

Характеристики

Age

45 години

Gender

Жена

Ethnicity

Афроамериканец

Клетки MM.1S | 305304

Morphology	Лимфобласт
Cell type	Клетка В
Growth properties	Смесени: свободно прикрепен монослой и суспензия

Регулаторни данни

Citation	MM.1S (каталожен номер 305304 на Cytion)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_8792

Биомолекулярни данни

Products	IgA lambda
Mutational profile	Мутация: KRAS, p.Gly12Ala (с.35G>C), хетерозиготен; Мутация: TRAF3, p.Val536_Asn545delValPheValAlaGlnThrValLeuGluAsninsAsp (с.1604-1630delTCTTTGTGGCCCAACTGTTCTAGAAA), хомозиготна

Работа с

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM стабилен глутамин, w: 2,0 g/L NaHCO ₃ (номер на статията в Cytion 820700a)
Supplements	Допълнете средата с 10% топлинно активиран FBS
Dissociation Reagent	Accutase

Subculturing	Съберете суспендираните клетки в 15-милилитрова епруветка и внимателно промийте прилепналите клетки с PBS без калций и магнезий (използвайте 3-5 ml за колби T25 и 5-10 ml за колби T75). Нанесете Accutase (1-2 ml за колби T25 и 2,5 ml за колби T75), като се уверите, че покрива изцяло клетъчния слой. Оставете клетките да се инкубират на стайна температура за 10 минути. След инкубацията комбинирайте и центрофугирайте суспензията и адхезивните клетки. След центрофугирането внимателно ресуспендирайте клетъчната пелета и прехвърлете клетъчната суспензия в нови колби, съдържащи свежа среда.
---------------------	--

Клетки MM.1S | 305304

Freeze medium

Като среда за криоконсервация използваме пълна среда за растеж (включително FBS) + 10% DMSO за адекватна жизнеспособност след размразяване или CM-1 (каталожен номер 800100 на Cytion), която включва оптимизирани осмопротектори и метаболитни стабилизатори за подобряване на възстановяването и намаляване на криоиндуцирания стрес.

Thawing and Culturing Cells

1. Уверете се, че флаконът остава дълбоко замразен при доставката, тъй като клетките се транспортират със сух лед, за да се поддържат оптимални температури по време на транспортирането.
2. При получаване или съхранявайте незабавно криовиолата при температури под $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, за да осигурите запазване на клетъчната цялост, или преминете към стъпка 3, ако е необходимо незабавно култивиране.
3. За незабавно култивиране бързо размразете флакона, като го потопите във водна баня с чиста вода и антимикуробен агент с температура $37\text{ }^{\circ}\text{C}$, като разбърквате внимателно в продължение на 40-60 секунди, докато остане малка ледена бучка.
4. Извършвайте всички следващи стъпки при стерилни условия в аспиратор, като преди отваряне дезинфекцирате криовиолата със 70% етанол.
5. Внимателно отворете дезинфекцирания флакон и прехвърлете клетъчната суспензия в 15 ml центрофужна епруветка, съдържаща 8 ml хранителна среда със стайна температура, като разбърквате внимателно.
6. Центрофугирайте сместа при $300 \times g$ в продължение на 3 минути, за да отделите клетките, и внимателно изхвърлете супернатантата, съдържаща остатъчна замразяваща среда.
7. Внимателно ресуспендирайте клетъчната пелета в 10 ml прясна хранителна среда. За адхезивни клетки разделете суспензията между две колби T25; за суспензионни култури прехвърлете цялата среда в една колба T25, за да стимулирате ефективното взаимодействие и растеж на клетките.
8. Придържайте се към установените протоколи за субкултивиране за непрекъснат растеж и поддържане на клетъчната линия, като гарантирате надеждни експериментални резултати.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , овлажнена атмосфера.

Flask Coating

За оптимално прикрепване и жизнеспособност след размразяване препоръчваме да се използват **колби или плаки с колагеново покритие**.

Клетки MM.1S | 305304

Freezing Procedure

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително -78°C по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

Shipping Conditions

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително -78°C по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

Storage Conditions

За дълготрайно съхранение поставете флаконите в течен азот в парна фаза при температура около -150 до -196°C . Съхранението при -80°C е приемливо само като кратък междинен етап преди прехвърлянето в течен азот.

Контрол на качеството / Генетичен профил / HLA

Sterility

Замърсяването с микоплазма се изключва както чрез PCR-базирани анализи, така и чрез луминесцентни методи за откриване на микоплазма.

За да се гарантира, че няма бактериално, гъбично или дрождево замърсяване, клетъчните култури се подлагат на ежедневни визуални проверки.