

Клетки АМО-1 | 305525

Обща информация

Description

Клетъчната линия АМО-1 е модел на множествена миелома, получен от злокачествено новообразувание на плазмени клетки. Тя се използва широко в изследвания, насочени към изучаване на механизмите на лекарствена чувствителност, апоптоза и сигнализация в туморните клетки при миелома. Клетките АМО-1 са чувствителни към различни химиотерапевтични средства и целеви терапии, като инхибитори на протеазомата и инхибитори на тирозин киназата, които са станали от решаващо значение в терапията на множествената миелома. Проучвания са показали, че лечението с инхибитори на тирозин киназата на далака (Syk) предизвиква значителни антипролиферативни и проапоптотични ефекти в клетките АМО-1. Това действие се осъществява чрез инхибиране на критични сигнални пътища, включително MAPK и NF- κ B, и се характеризира с повишено освобождаване на цитохром c и активиране на апоптотични маркери като каспаза-3 и PARP-1. Освен това инхибирането на Syk намалява миграцията на клетките и взаимодействието им със стромалните компоненти на костния мозък, което допълнително ограничава оцеляването на миеломните клетки.

Клетките АМО-1 са показали чувствителност и към природни съединения, насочени към оста Notch3-p53, като например производни на софокарпин. Тези съединения намаляват жизнеспособността на клетките чрез потискане на антиапоптотичните протеини (например Bcl-2) и чрез активиране на проапоптотичните фактори (например Bax и разцепена каспаза-3). Освен това лечението със софокарпин намалява експресията на Notch3 – сигнализационен път, свързан с прогресията на тумора при миелома и други видове рак. Това превръща АМО-1 в ефективен модел за тестване на лекарства, насочени към модифициране на Notch сигнализацията и апоптотичните пътища, медирани от p53. В контекста на имунотерапията АМО-1 клетките се разпознават от $\gamma\delta$ Т-клетките чрез експресията на междуклетъчната адхезивна молекула-1 (ICAM-1), а трансфекцията за повишаване на експресията на ICAM-1 увеличава тяхната податливост към лизис, медиран от Т-клетки. Тази характеристика подкрепя проучванията в областта на имунотерапията, насочени към миелома, като алтернативен подход при случаи на резистентност към лечението.

Organism

Човек

Tissue

Асцит

Disease

Множествен миелом

Synonyms

АМо1, АМО1

Характеристики

Age

64 години

Gender

Жена

Ethnicity

Японски

Клетки АМО-1 | 305525

Morphology Кръгли клетки**Growth properties** Окачване

Регулаторни данни

Citation АМО-1 (каталожен номер на Cytion 305525)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_1806

Биомолекулярни данни

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

Работа с

Culture Medium RPMI 1640, w: 2,0 mM стабилен глутамин, w: 2,0 g/L NaHCO₃ (номер на статията в Cytion 820700a)**Supplements** Допълнете средата с 20% FBS**Subculturing** Съберете суспендираните клетки в 15-милилитрова епруетка 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.**Seeding density** $3-5 \times 10^5$ /мл**Fluid renewal** 2 до 3 пъти седмично

Клетки АМО-1 | 305525**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 съхранявайте незабавно криовиолата при температури под -150°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 антимикробен агент с температура 37°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 x 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°C , 5% CO_2 , овлажнена атмосфера.

Клетки АМО-1 | 305525

Shipping Conditions

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед в утвърдени, изолирани опаковки 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 и молекулярен анализ

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.