

Κύτταρα AMO-1 | 305525

Γενικές πληροφορίες

Description

Η κυτταρική σειρά AMO-1 αποτελεί μοντέλο πολλαπλού μυελώματος που προέρχεται από κακοήγη νεόπλασμα πλάσματος κυττάρων. Χρησιμοποιείται ευρέως στην έρευνα για τη μελέτη των μηχανισμών ευαισθησίας στα φάρμακα, της απόπτωσης και της σηματοδότησης των καρκινικών κυττάρων στο μυέλωμα. Τα κύτταρα AMO-1 είναι ευαίσθητα σε διάφορους χημειοθεραπευτικούς παράγοντες και στοχευμένες θεραπείες, όπως οι αναστολείς του πρωτεασώματος και οι αναστολείς της τυροσίνης κινάσης, οι οποίοι έχουν καταστεί ζωτικής σημασίας στη θεραπεία του πολλαπλού μυελώματος. Μελέτες έχουν δείξει ότι η θεραπεία με αναστολείς της τυροσινικής κινάσης του σπλήνα (Syk) προκαλεί σημαντικές αντιπολλαπλασιαστικές και προ-αποπτωτικές επιδράσεις στα κύτταρα AMO-1. Η δράση αυτή πραγματοποιείται μέσω της αναστολής κρίσιμων οδών σηματοδότησης, συμπεριλαμβανομένων των MAPK και NF- κ B, και χαρακτηρίζεται από αυξημένη απελευθέρωση κυτοχρώματος c και ενεργοποίηση δεικτών απόπτωσης όπως η κασπάση-3 και η PARP-1. Επιπλέον, η αναστολή της Syk μειώνει τη μετανάστευση των κυττάρων και την αλληλεπίδρασή τους με τα στρωματικά συστατικά του μυελού των οστών, περιορίζοντας περαιτέρω την επιβίωση των κυττάρων του μυελώματος.

Τα κύτταρα AMO-1 έχουν επίσης δείξει ευαισθησία σε φυσικές ενώσεις που στοχεύουν τον άξονα Notch3-p53, όπως τα παράγωγα της σοφοκαρπίνης. Αυτές οι ενώσεις μειώνουν τη βιωσιμότητα των κυττάρων μέσω της καταστολής της έκφρασης των αντι-αποπτωτικών πρωτεϊνών (π.χ. Bcl-2) και της ενίσχυσης της έκφρασης των προ-αποπτωτικών παραγόντων (π.χ. Bax και διασπασμένη κασπάση-3). Επιπλέον, η θεραπεία με σοφοκαρπίνη μειώνει την έκφραση του Notch3, μια οδό που συνδέεται με την εξέλιξη του όγκου στο μυέλωμα και σε άλλους καρκίνους. Αυτό καθιστά τα κύτταρα AMO-1 ένα αποτελεσματικό μοντέλο για τη δοκιμή φαρμάκων που στοχεύουν στην τροποποίηση της σηματοδότησης Notch και των αποπτωτικών οδών που μεσολαβούνται από το p53. Στο πλαίσιο της ανοσοθεραπείας, τα κύτταρα AMO-1 αναγνωρίζονται από τα T-κύτταρα γδ μέσω της έκφρασης της μοριακής προσκόλλησης μεταξύ κυττάρων-1 (ICAM-1), ενώ η μεταμόλυνση για την αύξηση της έκφρασης της ICAM-1 ενισχύει την ευαισθησία τους στη λύση που προκαλείται από τα T-κύτταρα. Αυτό το χαρακτηριστικό υποστηρίζει τη διεξαγωγή μελετών σχετικά με ανοσοθεραπείες που στοχεύουν στο μυέλωμα ως εναλλακτική προσέγγιση για περιπτώσεις ανθεκτικές στη θεραπεία.

Organism

Ανθρώπινο

Tissue

Ασκήτης

Disease

Πολλαπλό μυέλωμα

Synonyms

AMo1, AMO1

Χαρακτηριστικά

Age

64 χρόνια

Gender

Γυναίκα

Ethnicity

Ιαπωνικά

Κύτταρα AMO-1 | 305525

Morphology Στρογγυλά κύτταρα**Growth properties** Αναστολή

Ρυθμιστικά δεδομένα

Citation AMO-1 (αριθμός καταλόγου Cytion 305525)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_1806

Βιομοριακά δεδομένα

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

Χειρισμός

Culture Medium RPMI 1640, w: 2,0 mM σταθερής γλουταμίνης, w: 2,0 g/L NaHCO₃ (αριθμός άρθρου Cytion 820700a)**Supplements** Συμπληρώστε το μέσο με 20% FBS**Subculturing** Συγκεντρώστε τα εναιωρήματα σε ένα σωληνάριο των 15 ml και πλύνετε απαλά τα προσκολλημένα κύτταρα με PBS χωρίς ασβέστιο και μαγνήσιο (χρησιμοποιήστε 3-5 ml για φιάλες T25 και 5-10 ml για φιάλες T75). Εφαρμόστε Accutase (1-2 ml για φιάλες T25, 2,5 ml για φιάλες T75) εξασφαλίζοντας πλήρη κάλυψη της κυτταρικής στιβάδας. Αφήστε τα κύτταρα να επωαστούν σε θερμοκρασία δωματίου για 10 λεπτά. Μετά την επώαση, συνδυάστε και φυγοκεντρίστε τόσο το εναιώρημα όσο και τα προσκολλημένα κύτταρα. Μετά τη φυγοκέντρηση, ανασυγκεντρώστε προσεκτικά το κυτταρικό σφαιρίδιο και μεταφέρετε το εναιώρημα κυττάρων σε νέες φιάλες που περιέχουν φρέσκο μέσο.**Seeding density** $3-5 \times 10^5$ /ml**Fluid renewal** 2 έως 3 φορές την εβδομάδα

Κύτταρα AMO-1 | 305525**Freeze medium**

Ως μέσο κρυοσυντήρησης, χρησιμοποιούμε πλήρες μέσο ανάπτυξης (συμπεριλαμβανομένου του FBS) + 10% DMSO για επαρκή βιωσιμότητα μετά την απόψυξη, ή CM-1 (αριθμός καταλόγου Cytion 800100), το οποίο περιλαμβάνει βελτιστοποιημένα ωσμοπροστατευτικά και μεταβολικούς σταθεροποιητές για την ενίσχυση της ανάκαμψης και τη μείωση του στρες που προκαλείται από την κρυοσυντήρηση.

Thawing and Culturing Cells

1. Επιβεβαιώστε ότι το φιαλίδιο παραμένει βαθιά παγωμένο κατά την παράδοση, καθώς τα κύτταρα αποστέλλονται σε ξηρό πάγο για να διατηρούνται οι βέλτιστες θερμοκρασίες κατά τη μεταφορά.
2. Κατά την παραλαβή, είτε αποθηκεύστε το κρυοφιαλίδιο αμέσως σε θερμοκρασίες κάτω των -150°C για να διασφαλίσετε τη διατήρηση της κυτταρικής ακεραιότητας, είτε προχωρήστε στο βήμα 3 εάν απαιτείται άμεση καλλιέργεια.
3. Για άμεση καλλιέργεια, αποψύξτε γρήγορα το φιαλίδιο βυθίζοντάς το σε υδατόλουτρο 37°C με καθαρό νερό και αντιμικροβιακό παράγοντα, αναδεύοντας απαλά για 40-60 δευτερόλεπτα μέχρι να παραμείνει ένα μικρό σβόλο πάγου.
4. Εκτελέστε όλα τα επόμενα βήματα υπό αποστειρωμένες συνθήκες σε απορροφητήρα ροής, απολυμαίνοντας το κρυοφιαλίδιο με 70% αιθανόλη πριν από το άνοιγμα.
5. Ανοίξτε προσεκτικά το απολυμασμένο φιαλίδιο και μεταφέρετε το εναιώρημα των κυττάρων σε ένα σωληνάριο φυγοκέντρωσης των 15 ml που περιέχει 8 ml θρεπτικού μέσου καλλιέργειας σε θερμοκρασία δωματίου, αναμειγνύοντας απαλά.
6. Φυγοκεντρίστε το μείγμα στα $300 \times g$ για 3 λεπτά για να διαχωριστούν τα κύτταρα και απορρίψτε προσεκτικά το υπερκείμενο που περιέχει το υπόλοιπο μέσο κατάψυξης.
7. Επανασυσσωματώστε απαλά το κυτταρικό σφαιρίδιο σε 10 ml φρέσκου μέσου καλλιέργειας. Για προσκολλημένα κύτταρα, μοιράστε το εναιώρημα σε δύο φιάλες καλλιέργειας T25- για καλλιέργειες εναιωρήματος, μεταφέρετε όλο το μέσο σε μία φιάλη T25 για να προωθήσετε την αποτελεσματική αλληλεπίδραση και ανάπτυξη των κυττάρων.
8. Τηρείτε τα καθιερωμένα πρωτόκολλα υποκαλλιέργειας για τη συνεχή ανάπτυξη και διατήρηση της κυτταρικής σειράς, εξασφαλίζοντας αξιόπιστα πειραματικά αποτελέσματα.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , υγραποιημένη ατμόσφαιρα.

Shipping Conditions

Οι κρυοσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των -78°C καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.

Κύτταρα AMO-1 | 305525

Storage Conditions

Για μακροχρόνια συντήρηση, τοποθετήστε τα φιαλίδια σε υγρό άζωτο σε φάση ατμών σε θερμοκρασία περίπου -150 έως -196 °C. Η αποθήκευση στους -80 °C είναι αποδεκτή μόνο ως σύντομο ενδιάμεσο βήμα πριν από τη μεταφορά σε υγρό άζωτο.

Έλεγχος ποιότητας και μοριακή ανάλυση

Sterility

Η μόλυνση από μυκόπλασμα αποκλείεται με τη χρήση τόσο των δοκιμασιών που βασίζονται στην PCR όσο και των μεθόδων ανίχνευσης μυκοπλάσματος με βάση τη φωταύγεια.

Για να διασφαλιστεί ότι δεν υπάρχει μόλυνση από βακτήρια, μύκητες ή ζύμες, οι κυτταροκαλλιέργειες υποβάλλονται σε καθημερινές οπτικές επιθεωρήσεις.