

AMO-1 ląstelės | 305525

Bendra informacija

Description

AMO-1 ląstelių linija yra dauginės mielomos modelis, gautas iš piktybinio plazminių ląstelių naviko. Ji plačiai naudojama tyrimuose, kuriuose nagrinėjami vaistų jautrumo, apoptozės ir navikinių ląstelių signalizacijos mechanizmai mielomos atveju. AMO-1 ląstelės yra jautrios įvairiems chemoterapiniams preparatams ir tikslinio gydymo priemonėms, pavyzdžiui, proteasomų inhibitoriams ir tirozino kinazės inhibitoriams, kurie tapo itin svarbūs dauginės mielomos gydyme. Tyrimai parodė, kad gydymas blužnies tirozino kinazės (Syk) inhibitoriais sukelia reikšmingą antiproliferacinį ir proapoptozinį poveikį AMO-1 ląstelėse. Šis poveikis pasireiškia slopinant svarbiausius signalizavimo kelius, įskaitant MAPK ir NF-kappaB, ir jam būdingas padidėjęs citochromo c išsiskyrimas bei apoptozės žymenų, tokių kaip kaspazė-3 ir PARP-1, aktyvacija. Be to, Syk slopinimas mažina ląstelių migraciją ir sąveiką su kaulų čiulpų stromos komponentais, dar labiau ribodamas mielomos ląstelių išlikimą.

AMO-1 ląstelės taip pat pasirodė jautrios natūraliems junginiams, veikiantiems „Notch3-p53“ ašį, pavyzdžiui, sofokarpino dariniais. Šie junginiai mažina ląstelių gyvybingumą, slopindami antiapoptozinių baltymų (pvz., Bcl-2) ekspresiją ir stiprindami proapoptozinių veiksnių (pvz., Bax ir suskaidytos kaspazės-3) ekspresiją. Be to, gydymas sofokarpinu sumažina Notch3 ekspresiją – šis signalinis kelias yra susijęs su naviko progresavimu mielomoje ir kitose vėžio formose. Dėl to AMO-1 yra veiksmingas modelis vaistams, skirtiems modifikuoti Notch signalizaciją ir p53 mediuojamus apoptozės kelius, tirti. Imunoterapijos kontekste AMO-1 ląstelės atpažįstamos yd T ląstelių per tarpląstelinės adhezijos molekulės-1 (ICAM-1) ekspresiją, o transfekcija, skirta padidinti ICAM-1 ekspresiją, sustiprina jų jautrumą T ląstelių tarpininkaujamai lizės reakcijai. Ši savybė remia tyrimus, skirtus mielomai nukreiptoms imunoterapijoms kaip alternatyviam požiūriui į atsparius gydymui atvejus.

Organism

Žmogus

Tissue

Ascitas

Disease

Daugybė mieloma

Synonyms

AMo1, AMO1

Charakteristikos

Age

64 metai

Gender

Moteris

Ethnicity

Japonų

Morphology

Apvalios ląstelės

Growth properties

Pakaba

AMO-1 ląstelės | 305525

Reguliavimo duomenys

Citation	AMO-1 (Cytion katalogo numeris 305525)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_1806

Biomolekuliniai duomenys

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

Tvarkymas

Culture Medium	RPMI 1640, š: 2,0 mM stabilus glutaminas, š: 2,0 g/L NaHCO ₃ (Cytion gaminio numeris 820700a)
Supplements	Papildykite terpę 20 % FBS
Subculturing	Surinkite ląstelių suspensiją į 15 ml mėgintuvėlį ir švelniai nuplaukite prilipusias ląsteles PBS, kuriame nėra kalcio ir magnio (naudokite 3-5 ml T25 kolboms ir 5-10 ml T75 kolboms). Užtepkite "Accutase" (1-2 ml T25 kolboms, 2,5 ml T75 kolboms), kad visiškai padengtumėte ląstelių sluoksnį. Leiskite ląstelėms 10 minučių inkubuotis kambario temperatūroje. Po inkubacijos sumaišykite ir centrifuguokite suspensiją ir prilipusias ląsteles. Po centrifugavimo atsargiai resuspenduokite ląstelių granules ir perkeltite ląstelių suspensiją į naujas kolbas su šviežia terpe.
Seeding density	3–5 × 10 ⁵ /ml
Fluid renewal	2-3 kartus per savaitę
Freeze medium	Kaip kriokonservavimo terpę naudojame visišką augimo terpę (įskaitant FBS) + 10 % DMSO, kad būtų užtikrintas tinkamas gyvybingumas po atšildymo, arba CM-1 (Cytion katalogo numeris 800100), kurioje yra optimizuotų osmoprotektorių ir medžiagų apykaitos stabilizatorių, kad būtų pagerintas atsigavimas ir sumažintas kriokonservavimo sukeltas stresas.

AMO-1 ląstelės | 305525**Thawing and
Culturing Cells**

1. Patikrinkite, ar pristatant buteliuką jis išlieka gerai užšaldytas, nes ląstelės gabenamos ant sauso ledo, kad gabenimo metu būtų palaikoma optimali temperatūra.
2. Gavę iš karto laikykite kriovialą žemesnėje nei -150°C temperatūroje, kad užtikrintumėte ląstelių vientisumo išsaugojimą, arba pereikite prie 3 veiksmo, jei reikia nedelsiant kultivuoti.
3. Jei norite nedelsiant pradėti kultivuoti, greitai atšildykite buteliuką panardindami jį į 37°C temperatūros vandens vonelę su švariu vandeniu ir antimikrobine priemone, švelniai maišydami 40-60 sekundžių, kol liks nedidelis ledo gabalėlis.
4. Visus tolesnius veiksmus atlikite steriliomis sąlygomis srauto gaubte, prieš atidarydami kriovialą dezinfekuokite jį 70 % etanoliu.
5. Atsargiai atidarykite dezinfekuotą buteliuką ir perpilkite ląstelių suspensiją į 15 ml centrifugos mėgintuvėlį, kuriame yra 8 ml kambario temperatūros mitybinės terpės, atsargiai išmaišykite.
6. Mišinį centrifuguokite $300 \times g$ greičiu 3 minutes, kad atsiskirtų ląstelės, ir atsargiai išmeskite supernatantą su šaldymo terpės likučiais.
7. Švelniai resuspenduokite ląstelių granules 10 ml šviežios mitybinės terpės. Jei ląstelės yra prigludusios, suspensiją padalykite į dvi T25 kolbas; jei tai suspensinės kultūros, visą terpę perkelti į vieną T25 kolbą, kad paskatintumėte veiksmingą ląstelių sąveiką ir augimą.
8. Laikykitės nustatytų subkultūrų protokolų, kad ląstelių linija nuolat augtų ir būtų palaikoma, taip užtikrinant patikimus eksperimentų rezultatus.

**Incubation
Atmosphere**

37°C , 5 % CO_2 , drėkintoje atmosferoje.

**Shipping
Conditions**

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug -78°C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelti mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

**Storage
Conditions**

Norėdami ilgai saugoti, įdėkite buteliukus į garų fazės skystą azotą maždaug -150 - 196°C temperatūroje. Laikymas -80°C temperatūroje yra priimtinas tik kaip trumpas tarpinis etapas prieš perkelti į skystąjį azotą.

Kokybės kontrolė ir molekulinė analizė

AMO-1 ląstelės | 305525

Sterility

Mikoplazmos užterštumas atmetamas taikant PGR pagrįstus tyrimus ir liuminescencinius mikoplazmos aptikimo metodus.

Siekiant užtikrinti, kad nebūtų užteršimo bakterijomis, grybeliais ar mielėmis, ląstelių kultūros kasdien vizualiai tikrinamos.