

Komórki AMO-1 | 305525

Informacje ogólne

Description

Linia komórkowa AMO-1 stanowi model szpiczaka mnogiego wywodzący się ze złośliwego nowotworu komórek plazmatycznych. Jest ona szeroko stosowana w badaniach nad mechanizmami wrażliwości na leki, apoptozą oraz sygnalizacją komórkową w szpiczaku. Komórki AMO-1 są wrażliwe na różne środki chemioterapeutyczne oraz terapie celowane, takie jak inhibitory proteasomu i inhibitory kinazy tyrozynowej, które odgrywają kluczową rolę w leczeniu szpiczaka mnogiego. Badania wykazały, że leczenie inhibitorami kinazy tyrozynowej śledziony (Syk) wywołuje znaczące działanie antyproliferacyjne i proapoptotyczne w komórkach AMO-1. Działanie to polega na hamowaniu kluczowych szlaków sygnałowych, w tym MAPK i NF-kappaB, i charakteryzuje się zwiększonym uwalnianiem cytochromu c oraz aktywacją markerów apoptozy, takich jak kaspaza-3 i PARP-1. Ponadto hamowanie Syk ogranicza migrację komórek i ich interakcję ze składnikami zrębu szpiku kostnego, co dodatkowo ogranicza przeżywalność komórek szpiczaka.

Komórki AMO-1 wykazały również wrażliwość na związki naturalne działające na oś Notch3-p53, takie jak pochodne sofokarpiny. Związki te zmniejszają żywotność komórek poprzez obniżanie ekspresji białek antyapoptotycznych (np. Bcl-2) oraz zwiększanie ekspresji czynników proapoptotycznych (np. Bax i rozszczepionej kaspazy-3). Ponadto leczenie sofokarpiną zmniejsza ekspresję Notch3 – szlaku związanego z progresją nowotworu w szpiczaku i innych nowotworach. To sprawia, że komórki AMO-1 stanowią skuteczny model do testowania leków mających na celu modyfikację sygnalizacji Notch oraz szlaków apoptotycznych, w których pośredniczy p53. W kontekście immunoterapii komórki AMO-1 są rozpoznawane przez komórki T $\gamma\delta$ poprzez ekspresję cząsteczki adhezyjnej międzykomórkowej 1 (ICAM-1), a transfekcja mająca na celu zwiększenie ekspresji ICAM-1 zwiększa ich podatność na lizę za pośrednictwem komórek T. Ta cecha stanowi podstawę badań nad immunoterapiami ukierunkowanymi na szpiczaka jako alternatywnym podejściem do leczenia przypadków opornych na leczenie.

Organism Człowiek**Tissue** Wodobrzusze**Disease** Szpiczak mnogi**Synonyms** AMo1, AMO1

Charakterystyka

Age 64 lata**Gender** Kobieta**Ethnicity** Japoński**Morphology** Okrągłe komórki

Komórki AMO-1 | 305525

Growth properties

Zawieszenie

Dane regulacyjne

Citation

AMO-1 (numer katalogowy Cytion 305525)

Biosafety level

1

NCBI_TaxID

9606

CellosaurusAccession

CVCL_1806

Dane biomolekularne

Mutational profile

Fuzja genów: IGKV1-8-IGKJ1; Fuzja genów: IGKV3-20-IGKJ2; Mutacja: BCOR, p.Gln312del (c.932_934AGC[1]) (c.935_937delAGC), heterozygotyczna; Mutacja: KRAS, p.Ala146Thr (c.436G>A), heterozygotyczna; Mutacja: STAT3, p.Cys712Tyr (c.2135G>A), heterozygotyczna; Mutacja: TET2, p.Gln1699Ter (c.5095C>T), heterozygotyczna

Obsługa

Culture Medium

RPMI 1640, w: 2,0 mM stabilnej glutaminy, w: 2,0 g/L NaHCO₃ (numer artykułu Cytion 820700a)

Supplements

Uzupełnić podłoże 20% FBS

Subculturing

Zebrać komórki zawiesiny do probówki o pojemności 15 ml i delikatnie przemyć przylegające komórki PBS pozbawionym wapnia i magnezu (użyć 3-5 ml dla kolb T25 i 5-10 ml dla kolb T75). Nałożyć Accutase (1-2 ml na kolby T25, 2,5 ml na kolby T75), zapewniając pełne pokrycie warstwy komórek. Pozostawić komórki do inkubacji w temperaturze pokojowej przez 10 minut. Po inkubacji połączyć i odwirować zarówno zawiesinę, jak i przylegające komórki. Po odwirowaniu ostrożnie zawiesić osad komórek i przenieść zawiesinę komórek do nowych kolb zawierających świeżą pożywkę.

Seeding density

 $3-5 \times 10^5/\text{ml}$

Fluid renewal

2 do 3 razy w tygodniu

Freeze medium

Jako pożywki do kriokonserwacji używamy kompletnej pożywki wzrostowej (w tym FBS) + 10% DMSO w celu zapewnienia odpowiedniej żywotności po rozmrożeniu lub CM-1 (numer katalogowy Cytion 800100), która zawiera zoptymalizowane osmoprotektanty i stabilizatory metaboliczne w celu zwiększenia regeneracji i zmniejszenia stresu wywołanego kriokonserwacją.

Komórki AMO-1 | 305525

Thawing and Culturing Cells

1. Upewnij się, że fiolka pozostaje głęboko zamrożona w momencie dostawy, ponieważ komórki są wysyłane w suchym lodzie, aby utrzymać optymalną temperaturę podczas transportu.
2. Po otrzymaniu należy natychmiast przechowywać fiolkę w temperaturze poniżej -150°C , aby zapewnić zachowanie integralności komórek, lub przejść do kroku 3, jeśli wymagana jest natychmiastowa hodowla.
3. W przypadku natychmiastowej hodowli należy szybko rozmrozić fiolkę, zanurzając ją w łaźni wodnej o temperaturze 37°C z czystą wodą i środkiem przeciwdrobnoustrojowym, delikatnie mieszając przez 40-60 sekund, aż pozostanie niewielka grudka lodu.
4. Wykonaj wszystkie kolejne kroki w sterylnych warunkach w kapturze przepływowej, dezynfekując fiolkę 70% etanolem przed otwarciem.
5. Ostrożnie otworzyć zdezynfekowaną fiolkę i przenieść zawiesinę komórek do 15 ml probówki wirówkowej zawierającej 8 ml podłoża hodowlanego o temperaturze pokojowej, delikatnie mieszając.
6. Wirować mieszaninę z prędkością $300 \times g$ przez 3 minuty w celu oddzielenia komórek i ostrożnie odrzucić supernatant zawierający pozostałości pożywki do zamrażania.
7. Delikatnie ponownie zawiesić osad komórek w 10 ml świeżego podłoża hodowlanego. W przypadku komórek przylegających, rozdzielić zawiesinę pomiędzy dwie kolby hodowlane T25; w przypadku hodowli zawiesinowych, przenieść całą pożywkę do jednej kolby T25 w celu promowania skutecznej interakcji i wzrostu komórek.
8. Przestrzegaj ustalonych protokołów podhodowli w celu ciągłego wzrostu i utrzymania linii komórkowej, zapewniając wiarygodne wyniki eksperymentów.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , nawilżona atmosfera.

Shipping Conditions

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolkę do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Storage Conditions

W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiolkę w ciekłym azocie w fazie lotnej w temperaturze od -150 do -196°C . Przechowywanie w temperaturze -80°C jest dopuszczalne tylko jako krótki etap przejściowy przed przeniesieniem do ciekłego azotu.

Komórki AMO-1 | 305525

Kontrola jakości i analiza molekularna

Sterility

Zanieczyszczenie mykoplazmą jest wykluczane przy użyciu zarówno testów opartych na PCR, jak i metod wykrywania mykoplazmy opartych na luminescencji.

Aby upewnić się, że nie ma zanieczyszczenia bakteriami, grzybami lub drożdżami, hodowle komórkowe są poddawane codziennym kontrolom wizualnym.