

MDS-L-celler | 305826

Generel information

Description

MDS-L er en human myelodysplastisk syndrom (MDS)-afledt cellelinje, der oprindeligt blev etableret fra MDS92-cellelinjen, som selv stammer fra knoglemarven hos en patient med MDS, der udviste en del(5q) kromosomafvigelse. Mens MDS92 indeholdt en heterogen blanding af myeloide celler i forskellige differentieringsstadier, repræsenterer MDS-L en blastisk sublinje med mere ensartede træk, der er karakteristiske for umodne myeloide progenitorceller. MDS-L bevarer interleukin-3 (IL-3)-afhængighed for proliferation in vitro, hvilket afspejler den cytokinfølsomhed, der ses i primære MDS-stamceller. Linjen rummer flere genetiske ændringer, herunder homozygote TP53-mutationer og yderligere erhvervede mutationer i NRAS og CEBPA. Disse ændringer afspejler samlet set den klonale udvikling og det leukæmiske transformationspotentiale, der er typisk for højrisiko-MDS.

MDS-L er blevet brugt i vid udstrækning som model til at undersøge de molekylære mekanismer, der ligger til grund for MDS-patogenese, differentieringsblokering og terapeutisk resistens. Et vigtigt fund ved brug af MDS-L var påvisningen af, at tvungen ekspression af granulocytokolonistimulerende faktor-receptor (G-CSFR) via retroviral transduktion muliggjorde granulocytisk differentiering ved G-CSF-stimulering. Dette blev påvist ved morfologiske ændringer, øget CD11b-ekspression og forøget nitroblå tetrazolium (NBT)-reduktionsaktivitet, hvilket indikerer terminal granulocytmodning. Disse resultater afslørede MDS-L's iboende evne til at differentiere, hvis de relevante signalkomponenter genoprettes, hvilket giver indsigt i potentielle genterapimetoder, der er rettet mod differentieringsdefekter i MDS.

Ud over genetiske og funktionelle studier har MDS-L været afgørende for karakteriseringen af histonmodifikations rolle i sygdommens progression. Især blev histon H3-K27M-mutationen, der ofte er forbundet med pædiatriske gliomer, men sjældent forekommer i hæmatologiske maligniteter, identificeret i MDS-L og fundet at hæmme EZH2-medieret histonmethylering. Denne epigenetiske ændring førte til en omfattende reduktion i H3-K27-methylering og var forbundet med ændret ekspression af tumorsuppressorgener såsom p16. MDS-L-underlinjer med eller uden denne mutation – afledt gennem differentierede IL-3-kulturbetingelser – har yderligere gjort det muligt at undersøge epigenetisk heterogenitet inden for MDS og dens implikationer for IL-3-afhængig vækst og terapeutisk respons. Disse unikke egenskaber gør MDS-L til en kraftfuld in vitro- og in vivo-model til undersøgelse af den molekylære udvikling og terapeutiske målretning af MDS og dens transformation til akut myeloid leukæmi.

Organism Menneske

Tissue Knoglemarv

Disease Myelodysplastisk syndrom

Synonyms MDSL

Karakteristika

Age 52 år

Gender Mand

MDS-L-celler | 305826

Ethnicity	Japansk
------------------	---------

Growth properties	Ophængning
--------------------------	------------

Regulatoriske data

Citation	MDS-L (Cytion-katalognummer 305826)
-----------------	-------------------------------------

Biosafety level	1
------------------------	---

NCBI_TaxID	9606
-------------------	------

CellosaurusAccession	CVCL_A8QV
-----------------------------	-----------

Biomolekylære data

Mutational profile	Mutation: CEBPA, enkel, p.Gln311Ter (c.931C>T), heterozygot, H3C3, enkel, p.Lys28Met (c.83A>T), heterozygot, NRAS, enkel, p.Gly12Ala (c.35G>C), heterozygot, TP53, enkel, c.672+1G>A, homozygot, bemærkning=splejsningsdonormutation
---------------------------	--

Håndtering

Culture Medium	RPMI 1640, m: 2,0 mM stabil glutamin, m: 2,0 g/L NaHCO ₃ (Cytion artikelnummer 820700a)
-----------------------	--

Supplements	Tilføj 10 % FBS og 20 ng/ml IL-3 human rekombinant til mediet.
--------------------	--

Dissociation Reagent	Ingen
-----------------------------	-------

Freeze medium	Som kryopræserveringsmedium bruger vi komplet vækstmedium (inklusive FBS) + 10 % DMSO for tilstrækkelig levedygtighed efter optøning eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som indeholder optimerede osmobeskyttende stoffer og metaboliske stabilisatorer for at forbedre genopretningen og reducere kryo-induceret stress.
----------------------	--

MDS-L-celler | 305826

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Bekræft, at hætteglasset forbliver dybfrosset ved levering, da cellerne sendes på tøris for at opretholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved modtagelsen skal du enten straks opbevare kryohætteglasset ved temperaturer under -150 °C for at sikre, at cellernes integritet bevares, eller gå videre til trin 3, hvis øjeblikkelig dyrkning er påkrævet.
3. Ved øjeblikkelig dyrkning optøs hætteglasset hurtigt ved at nedsænke det i et 37 °C varmt vandbad med rent vand og et antimikrobielt middel og røre forsigtigt i 40-60 sekunder, indtil der kun er en lille isklump tilbage.
4. Udfør alle efterfølgende trin under sterile forhold i en flowhætte, og desinficer kryovialet med 70 % ethanol, før det åbnes.
5. Åbn forsigtigt det desinficerede hætteglas, og overfør cellesuspensionen til et 15 ml centrifugerør, der indeholder 8 ml kulturmedium ved stuetemperatur, og bland forsigtigt.
6. Centrifuger blandingen ved 300 x g i 3 minutter for at adskille cellerne, og kassér omhyggeligt supernatanten, der indeholder resterende frysemedium.
7. Resuspender forsigtigt cellepelleten i 10 ml frisk dyrkningsmedium. For klæbende celler deles suspensionen mellem to T25-kulturkolber; for suspensionskulturer overføres alt mediet til en T25-kolbe for at fremme effektiv celleinteraktion og -vækst.
8. Overhold etablerede subkulturprotokoller for fortsat vækst og vedligeholdelse af cellelinjen, hvilket sikrer pålidelige eksperimentelle resultater.

**Incubation
Atmosphere**

37°C, 5% CO_2 , befugtet atmosfære.

Flask Coating

Ingen

**Shipping
Conditions**

Kryopræservede cellelinjer sendes på tøris i valideret, isoleret emballage med tilstrækkeligt kølemiddel til at opretholde ca. -78 °C under hele transporten. Ved modtagelse skal beholderen straks inspiceres, og hætteglassene skal straks overføres til passende opbevaring.

**Storage
Conditions**

For langtidsopbevaring anbringes hætteglas i flydende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Opbevaring ved -80 °C er kun acceptabelt som et kort mellemtrin før overførsel til flydende nitrogen.

Kvalitetskontrol / Genetisk profil / HLA

MDS-L-celler | 305826

Sterility

Mycoplasma-kontaminering udelukkes ved hjælp af både PCR-baserede assays og luminescensbaserede mycoplasma-detektionsmetoder.

For at sikre, at der ikke er nogen bakterie-, svampe- eller gærforurening, underkastes cellekulturene daglige visuelle inspektioner.