Product sheet

MDS-L-Zellen | 305826

Allgemeine Informationen

Description	MDS-L ist eine aus dem myelodysplastischen Syndrom (MDS) stammende Zelllinie, die ursprünglich aus der Zelllinie MDS92 gewonnen wurde, die wiederum aus dem Knochenmark eines MDS-Patienten mit einer del(5q)-Chromosomenanomalie gewonnen wurde. Während MDS92 eine heterogene Mischung aus myeloischen Zellen in verschiedenen Differenzierungsstadien enthielt, stellt MDS-L eine blastische Sublinie mit einheitlicheren Merkmalen dar, die für unreife myeloische Vorläuferzellen charakteristisch sind. MDS-L behält die Interleukin-3 (IL-3)-Abhängigkeit für die Proliferation in vitro bei, was die bei primären MDS-Vorläuferzellen beobachtete Zytokinempfindlichkeit widerspiegelt. Die Linie weist mehrere genetische Veränderungen auf, darunter homozygote TP53-Mutationen und zusätzliche erworbene Mutationen in NRAS und CEBPA. Diese Veränderungen spiegeln insgesamt die für hochriskante MDS typische klonale Evolution und das Potenzial für eine leukämische Transformation wider. MDS-L wurde häufig als Modell zur Untersuchung der molekularen Mechanismen verwendet, die der MDS-Pathogenese, der Differenzierungsblockade und der Therapieresistenz zugrunde liegen. Eine wichtige Erkenntnis unter Verwendung von MDS-L war der Nachweis, dass die forcierte Expression des Granulozyten-Kolonie-stimulierenden Faktors (G-CSFR) über retrovirale Transduktion die granulozytäre Differenzierung nach G-CSF-Stimulation ermöglichte. Dies wurde durch morphologische Veränderungen, eine erhöhte CD11b-Expression und eine verstärkte Nitroblau-Tetrazolium (NBT)-Reduktionsaktivität belegt, die auf eine terminale Granulozytenreifung hinweisen. Diese Ergebnisse zeigten die intrinsische Fähigkeit von MDS-L zur Differenzierung, wenn die entsprechenden Signalkomponenten wiederhergestellt sind, und lieferten Erkenntnisse über mögliche gentherapeutische Ansätze, die auf Differenzierungsdefekte bei MDS abzielen. Zusätzlich zu genetischen und funktionellen Studien war MDS-L maßgeblich an der Charakterisierung der Rolle von Histonmodifikationen im Krankheitsverlauf beteiligt. Insbesondere wurde die Histon-H3-K27M-Mutation, die häufig mit pädiatrischen Gliomen assoziiert ist, aber bei hämatologischen Malignomen selten auftritt, in MDS-L identifiziert und es wurde festgestellt, dass sie die EZH2-vermittelte Histonmethylierung hemmt. Diese epigenetische Veränderung führte zu einer weitreichenden Verringerung der H3-K27-Methylierung und stand im Zusammenhang mit einer veränderten Expression von Tumorsuppressorgenen wie p16. MDS-L-Sublinien mit oder ohne diese Mutation, die durch unterschiedliche IL-3-Kulturbedingungen entstanden sind, haben eine weitere Untersuchung der epigenetischen Heterogenität innerhalb von MDS und ihrer Auswirkungen auf das IL-3-abhängige Wachstum und das Ansprechen auf die Therapie ermöglicht. Diese einzigartigen Eigenschaften machen MDS-L zu einem leistungsstarken In-vitro- und In-vivo-Modell für die Untersuchung der molekularen Evolution und der therapeutischen Zielsetzung von MDS und seiner Transformation in akute myeloische Leukämie.
Organism	Menschen
Tissue	Knochenmark
Disease	Myelodysplastisches Syndrom
Synonyms	MDSL

Merkmale

MDS-L-Zellen | 305826

Age	52 Jahre
Gender	Männlich
Ethnicity	Japanisch
Growth properties	Aufhängung

Regulatorische Daten

Citation	MDS-L (Cytion-Katalognummer 305826)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_A8QV

Biomolekulare Daten

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

Handhabung

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM stabiles Glutamin, w: 2,0 g/L NaHCO3 (Cytion-Artikelnummer 820700a)
Supplements	Ergänzen Sie das Medium mit 10 % FBS und 20 ng/ml humanem rekombinantem IL-3.
Dissociation Reagent	Keine
Freeze medium	Als Kryokonservierungsmedium verwenden wir komplettes Wachstumsmedium (einschließlich FBS) + 10 % DMSO für eine angemessene Lebensfähigkeit nach dem Auftauen oder CM-1 (Cytion Katalognummer 800100), das optimierte Osmoprotektoren und Stoffwechselstabilisatoren enthält, um die Erholung zu verbessern und kryoinduzierten Stress zu reduzieren.

MDS-L-Zellen | 305826

Thawing and Culturing Cells

1. Vergewissern Sie sich, dass das Fläschchen bei der Lieferung tiefgefroren ist, da die Zellen auf Trockeneis versandt werden, um während des Transports optimale Temperaturen zu erhalten.
2. Lagern Sie das Kryofläschchen nach Erhalt entweder sofort bei Temperaturen unter -150 °C, um die Unversehrtheit der Zellen zu gewährleisten, oder fahren Sie mit Schritt 3 fort, wenn eine sofortige Kultivierung erforderlich ist.
3. Für eine sofortige Kultivierung tauen Sie das Fläschchen schnell auf, indem Sie es in ein 37°C warmes Wasserbad mit sauberem Wasser und einem antimikrobiellen Mittel eintauchen und 40-60 Sekunden lang vorsichtig schütteln, bis ein kleiner Eisklumpen zurückbleibt.
4. Führen Sie alle weiteren Schritte unter sterilen Bedingungen in einer Abzugshaube durch und desinfizieren Sie das Kryo-Fläschchen vor dem Öffnen mit 70%igem Ethanol.
5. Das desinfizierte Fläschchen vorsichtig öffnen und die Zellsuspension unter vorsichtigem Mischen in ein 15-ml-Zentrifugenröhrchen mit 8 ml Kulturmedium bei Raumtemperatur überführen.
6. Zentrifugieren Sie das Gemisch 3 Minuten lang bei 300 x g, um die Zellen abzutrennen, und verwerfen Sie den Überstand mit dem restlichen Gefriermedium vorsichtig.
7. Das Zellpellet vorsichtig in 10 ml frischem Kulturmedium resuspendieren. Bei adhärenten Zellen die Suspension auf zwei T25-Kulturflaschen aufteilen; bei Suspensionskulturen das gesamte Medium in eine T25-Flasche überführen, um eine effektive Zellinteraktion und ein effektives Wachstum zu fördern.
8. Halten Sie sich an die festgelegten Subkulturprotokolle, um ein kontinuierliches Wachstum und die Aufrechterhaltung der Zelllinie zu gewährleisten und zuverlässige Versuchsergebnisse zu erzielen.

Incubation Atmosphere

37°C, 5%$_{CO2}$, befeuchtete Atmosphäre.

Flask Coating

Keine

Shipping Conditions

Kryokonservierte Zelllinien werden auf Trockeneis in einer validierten, isolierten Verpackung mit ausreichend Kühlmittel versandt, um während des gesamten Transports eine Temperatur von etwa -78 °C aufrechtzuerhalten. Prüfen Sie den Behälter bei Erhalt sofort und bringen Sie die Fläschchen unverzüglich in ein geeignetes Lager.

Storage Conditions

Zur Langzeitkonservierung werden die Fläschchen in flüssigem Stickstoff bei etwa -150 bis -196 °C gelagert. Eine Lagerung bei -80 °C ist nur als kurzer Zwischenschritt vor der Überführung in flüssigen Stickstoff akzeptabel.

Qualitätskontrolle und molekulare Analyse

Sterility

Eine Kontamination mit Mykoplasmen wird sowohl durch PCR-basierte Assays als auch durch lumineszenzbasierte Mykoplasmen-Nachweisverfahren ausgeschlossen.

Um sicherzustellen, dass keine Kontamination mit Bakterien, Pilzen oder Hefen vorliegt, werden die Zellkulturen täglich visuell überprüft.