

Κύτταρα MDS-L | 305826

Γενικές πληροφορίες

Description

Το MDS-L είναι μια κυτταρική σειρά που προέρχεται από το μυελοδυσπλαστικό σύνδρομο (MDS) του ανθρώπου και δημιουργήθηκε αρχικά από την κυτταρική σειρά MDS92, η οποία με τη σειρά της προήλθε από το μυελό των οστών ενός ασθενούς με MDS που παρουσίαζε χρωμοσωμική ανωμαλία del(5q). Ενώ η MDS92 περιείχε ένα ετερογενές μείγμα μυελοειδών κυττάρων σε διάφορα στάδια διαφοροποίησης, η MDS-L αντιπροσωπεύει μια βλαστική υπογραμμή με πιο ομοιόμορφα χαρακτηριστικά που είναι χαρακτηριστικά των ανώριμων μυελοειδών προγονικών κυττάρων. Η MDS-L διατηρεί την εξάρτηση από την ιντερλευκίνη-3 (IL-3) για τον πολλαπλασιασμό in vitro, αντικατοπτρίζοντας την ευαισθησία στις κυτοκίνες που παρατηρείται στα πρωτογενή προγονικά κύτταρα MDS. Η σειρά φέρει πολλαπλές γενετικές αλλοιώσεις, συμπεριλαμβανομένων ομόζυγων μεταλλάξεων TP53 και πρόσθετων επίκτητων μεταλλάξεων σε NRAS και CEBPA. Αυτές οι αλλοιώσεις αντικατοπτρίζουν συλλογικά την κλωνική εξέλιξη και το δυναμικό λευχαιμικής μετατροπής που είναι τυπικό του MDS υψηλού κινδύνου.

Το MDS-L έχει χρησιμοποιηθεί ευρέως ως μοντέλο για τη διερεύνηση των μοριακών μηχανισμών που υποκρύπτονται στην παθογένεση του MDS, στον αποκλεισμό της διαφοροποίησης και στη θεραπευτική αντοχή. Ένα σημαντικό εύρημα με τη χρήση του MDS-L ήταν η απόδειξη ότι η αναγκαστική έκφραση του υποδοχέα του παράγοντα διέγερσης αποικιών κοκκιοκυττάρων (G-CSFR) μέσω ρετροϊκής μεταγωγής επέτρεψε τη διαφοροποίηση των κοκκιοκυττάρων μετά από διέγερση με G-CSF. Αυτό αποδείχθηκε από μορφολογικές αλλαγές, αυξημένη έκφραση CD11b και ενισχυμένη δραστηριότητα μείωσης νιτρομπλεου τετραζολίου (NBT) - ενδεικτική της τελικής ωρίμανσης των κοκκιοκυττάρων. Αυτά τα αποτελέσματα αποκάλυψαν την εγγενή ικανότητα του MDS-L να διαφοροποιείται εάν αποκατασταθούν τα κατάλληλα συστατικά σηματοδότησης, προσφέροντας πληροφορίες για πιθανές προσεγγίσεις γονιδιακής θεραπείας που στοχεύουν σε ελαττώματα διαφοροποίησης στο MDS.

Εκτός από τις γενετικές και λειτουργικές μελέτες, το MDS-L έχει συμβάλει καθοριστικά στον χαρακτηρισμό του ρόλου των τροποποιήσεων των ιστονών στην εξέλιξη της νόσου. Συγκεκριμένα, η μετάλλαξη ιστόνης H3-K27M, που συνήθως σχετίζεται με παιδιατρικά γλοιώματα αλλά είναι σπάνια σε αιματολογικές κακοήθειες, εντοπίστηκε στο MDS-L και διαπιστώθηκε ότι αναστέλλει τη μεθυλίωση ιστονών που μεσολαβείται από EZH2. Αυτή η επιγενετική αλλοίωση οδήγησε σε εκτεταμένη μείωση της μεθυλίωσης H3-K27 και συνδέθηκε με την αλλοιωμένη έκφραση γονιδίων καταστολής όγκων, όπως το p16. Οι υπογραμμές MDS-L με ή χωρίς αυτή τη μετάλλαξη - που προέκυψε από διαφορικές συνθήκες καλλιέργειας IL-3 - επέτρεψαν την περαιτέρω διερεύνηση της επιγενετικής ετερογένειας εντός του MDS και των επιπτώσεών της στην εξαρτώμενη από IL-3 ανάπτυξη και τη θεραπευτική ανταπόκριση. Αυτές οι μοναδικές ιδιότητες καθιστούν το MDS-L ένα ισχυρό in vitro και in vivo μοντέλο για τη μελέτη της μοριακής εξέλιξης και της θεραπευτικής στόχευσης του MDS και της μετατροπής του σε οξεία μυελογενή λευχαιμία.

Organism Ανθρώπινο

Tissue Μυελός των οστών

Disease Μυελοδυσπλαστικό σύνδρομο

Synonyms MDSL

Χαρακτηριστικά

Κύτταρα MDS-L | 305826

Age	52 χρόνια
Gender	Άντρας
Ethnicity	Ιαπωνικά
Growth properties	Αναστολή

Ρυθμιστικά δεδομένα

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

Βιομοριακά δεδομένα

Mutational profile	Μετάλλαξη: CEBPA, Απλή, p.Gln311Ter (c.931C>T), Ετερόζυγη, H3C3, Απλή, p.Lys28Met (c.83A>T), Ετερόζυγη, NRAS, Απλή, p.Gly12Ala (c.35G>C), Ετερόζυγο, TP53, Απλό, c.672+1G>A, Ομόζυγο, Σημείωση=Μεταλλαγή δότη σπλάισης
---------------------------	--

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 10% FBS και 20 ng/ml IL-3 ανθρώπινης ανασυνδυασμένης μορφής.
Dissociation Reagent	Κανένα
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.

Κύτταρα MDS-L | 305826**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 κρουφιαλίδιο 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 κρουφιαλίδιο με 70% αιθανόλη πριν από το άνοιγμα.
5. Ανοίξτε προσεκτικά το απολυμασμένο φιαλίδιο και μεταφέρετε το εναιώρημα των κυττάρων σε ένα σωληνάριο φυγοκέντρησης των 15 ml που περιέχει 8 ml θρεπτικού μέσου καλλιέργειας σε θερμοκρασία δωματίου, αναμειγνύοντας απαλά.
6. Φυγοκεντρίστε το μείγμα στα 300 x 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.

Flask Coating

Κανένα

**Shipping
Conditions**

Οι κρουσυντηρημένες 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 MDS-L | 305826

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.

Ποιοτικός έλεγχος / Γενετικό προφίλ / HLA

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.