

Células MDS-L | 305826

Información general

Description

MDS-L es una línea celular derivada del síndrome mielodisplásico humano (MDS) establecida originalmente a partir de la línea celular MDS92, que a su vez se derivó de la médula ósea de un paciente con MDS que presentaba una anomalía cromosómica del(5q). Mientras que MDS92 contenía una mezcla heterogénea de células mieloides en diferentes etapas de diferenciación, MDS-L representa una sublínea blástica con características más uniformes propias de las células progenitoras mieloides inmaduras. MDS-L conserva la dependencia de la interleucina-3 (IL-3) para la proliferación in vitro, lo que refleja la sensibilidad a las citocinas observada en las células progenitoras primarias del SMD. La línea alberga múltiples alteraciones genéticas, incluidas mutaciones homocigóticas del TP53 y mutaciones adquiridas adicionales en NRAS y CEBPA. Estas alteraciones reflejan colectivamente la evolución clonal y el potencial de transformación leucémica típicos del SMD de alto riesgo.

El MDS-L se ha utilizado ampliamente como modelo para investigar los mecanismos moleculares que subyacen a la patogénesis del MDS, el bloqueo de la diferenciación y la resistencia terapéutica. Un hallazgo significativo utilizando el MDS-L fue la demostración de que la expresión forzada del receptor del factor estimulante de colonias de granulocitos (G-CSFR) mediante transducción retroviral permitía la diferenciación granulocítica tras la estimulación con G-CSF. Esto se evidenció mediante cambios morfológicos, aumento de la expresión de CD11b y aumento de la actividad reductora del nitroazul de tetrazolio (NBT), indicativo de la maduración terminal de los granulocitos. Estos resultados revelaron la capacidad intrínseca del MDS-L para diferenciarse si se restauran los componentes de señalización adecuados, lo que ofrece información sobre posibles enfoques de terapia génica dirigidos a los defectos de diferenciación en el MDS.

Además de los estudios genéticos y funcionales, el MDS-L ha sido fundamental para caracterizar el papel de las modificaciones de las histonas en la progresión de la enfermedad. En particular, se identificó en el MDS-L la mutación de la histona H3-K27M, comúnmente asociada a los gliomas pediátricos pero poco frecuente en las neoplasias hematológicas, y se descubrió que inhibía la metilación de histonas mediada por EZH2. Esta alteración epigenética provocó una reducción generalizada de la metilación de H3-K27 y se relacionó con la expresión alterada de genes supresores de tumores como el p16. Las sublíneas MDS-L con o sin esta mutación, derivadas de condiciones de cultivo diferenciales de IL-3, han permitido explorar aún más la heterogeneidad epigenética dentro del MDS y sus implicaciones para el crecimiento dependiente de IL-3 y la respuesta terapéutica. Estas propiedades únicas convierten al MDS-L en un potente modelo in vitro e in vivo para estudiar la evolución molecular y la orientación terapéutica del MDS y su transformación en leucemia mieloide aguda.

Organism Humano

Tissue Médula ósea

Disease Síndrome mielodisplásico

Synonyms MDSL

Características

Age 52 años

Células MDS-L | 305826

Gender Hombre

Ethnicity Japonés

Growth properties Suspensión

Datos reglamentarios

Citation MDS-L (número de catálogo Cytion 305826)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_A8QV

Datos biomoleculares

Mutational profile Mutación: CEBPA, simple, p.Gln311Ter (c.931C>T), heterocigótica, H3C3, simple, p.Lys28Met (c.83A>T), heterocigótica, NRAS, simple, p.Gly12Ala (c.35G>C), heterocigótica, TP53, simple, c.672+1G>A, homocigótica, nota = mutación donante de empalme.

Manejo de

Culture Medium RPMI 1640, con: 2,0 mM de glutamina estable, con: 2,0 g/L de NaHCO₃ (número de artículo de Cytion 820700a)

Supplements Suplementar el medio con un 10 % de FBS y 20 ng/ml de IL-3 recombinante humana.

Dissociation Reagent Ninguno

Freeze medium Como medio de criopreservación, utilizamos el medio de crecimiento completo (incluido FBS) + 10% DMSO para una viabilidad adecuada tras la descongelación, o CM-1 (número de catálogo 800100 de Cytion), que incluye osmoprotectores optimizados y estabilizadores metabólicos para mejorar la recuperación y reducir el estrés crioinducido.

Células MDS-L | 305826

Thawing and Culturing Cells

1. Confirme que el vial permanece profundamente congelado en el momento de la entrega, ya que las células se envían en hielo seco para mantener temperaturas óptimas durante el transporte.
2. Tras la recepción, almacene el criovial inmediatamente a temperaturas inferiores a -150°C para garantizar la conservación de la integridad celular, o proceda al paso 3 si se requiere el cultivo inmediato.
3. Para el cultivo inmediato, descongele rápidamente el vial sumergiéndolo en un baño de agua a 37°C con agua limpia y un agente antimicrobiano, agitando suavemente durante 40-60 segundos hasta que quede un pequeño grumo de hielo.
4. Realice todos los pasos siguientes en condiciones estériles en una campana de flujo, desinfectando el criovial con etanol al 70% antes de abrirlo.
5. Abrir con cuidado el vial desinfectado y transferir la suspensión celular a un tubo de centrifuga de 15 ml que contenga 8 ml de medio de cultivo a temperatura ambiente, mezclando suavemente.
6. Centrifugar la mezcla a $300 \times g$ durante 3 minutos para separar las células y desechar cuidadosamente el sobrenadante que contiene medio de congelación residual.
7. Resuspender suavemente el sedimento celular en 10 ml de medio de cultivo fresco. Para las células adherentes, dividir la suspensión entre dos matraces de cultivo T25; para los cultivos en suspensión, transferir todo el medio a un matraz T25 para promover la interacción y el crecimiento celular efectivos.
8. Siga los protocolos de subcultivo establecidos para el crecimiento y mantenimiento continuos de la línea celular, garantizando resultados experimentales fiables.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , atmósfera humidificada.

Flask Coating

Ninguno

Shipping Conditions

Las líneas celulares crioconservadas se envían en hielo seco en envases validados y aislados con suficiente refrigerante para mantener aproximadamente -78°C durante el tránsito. A la recepción, inspeccione el envase inmediatamente y transfiera los viales sin demora al almacenamiento adecuado.

Storage Conditions

Para la conservación a largo plazo, coloque los viales en nitrógeno líquido en fase vapor a una temperatura aproximada de -150 a -196°C . El almacenamiento a -80°C sólo es aceptable como breve paso intermedio antes de la transferencia al nitrógeno líquido.

Células MDS-L | 305826

Control de calidad / Perfil genético / HLA

Sterility

La contaminación por micoplasma se excluye utilizando tanto ensayos basados en la PCR como métodos de detección de micoplasma basados en la luminiscencia.

Para garantizar la ausencia de contaminación bacteriana, fúngica o por levaduras, los cultivos celulares se someten a inspecciones visuales diarias.