

MDS-L rakud | 305826

Üldine teave

Description

MDS-L on inimese müelodüsplastilisest sündroomist (MDS) pärinev rakuliin, mis on algselt loodud MDS92 rakuliinist, mis omakorda pärineb MDS-i ja del(5q) kromosoomianomaaliaga patsiendi lüüdist. Kui MDS92 sisaldas heterogeenset segu erinevates diferentseerumisstaadiumites olevatest müeloidrakkudest, siis MDS-L esindab blastilist alaliini, millel on ühtlasemad omadused, mis on iseloomulikud ebaküpsetele müeloidrakkude eellastele. MDS-L säilitab interleukiin-3 (IL-3) sõltuvuse proliferatsiooniks in vitro, peegeldades tsütokiinide tundlikkust, mida on täheldatud primaarse MDS-e eellastrakkudes. Liin sisaldab mitmeid geneetilisi muutusi, sealhulgas homosügootseid TP53 mutatsioone ja täiendavaid omandatud mutatsioone NRAS-is ja CEBPA-s. Need muutused peegeldavad kokkuvõttes kloonide evolutsiooni ja leukeemilise transformatsiooni potentsiaali, mis on tüüpiline kõrge riskiga MDS-ile.

MDS-L-i on laialdaselt kasutatud mudelina MDS-i patogeneesi, diferentseerumise blokeerumise ja ravimresistentsuse molekulaarmehhanismide uurimiseks. Üks oluline MDS-L-i kasutamisel tehtud avastus oli tõestus, et granuloetsüütide kolooniat stimuleeriva faktori retseptori (G-CSFR) sündekspressioon retroviirusliku transduktsiooni kaudu võimaldas granuloetsüütide diferentseerumist G-CSF stimuleerimisel. Seda tõendasid morfoloogilised muutused, CD11b ekspressiooni suurenemine ja nitroblue tetrazoliumi (NBT) redutseerimisaktiivsuse suurenemine, mis viitab granuloetsüütide lõplikule küpsemisele. Need tulemused näitasid MDS-L sisemist võimet diferentseeruda, kui taastatakse sobivad signaalikomponendid, pakkudes teadmisi potentsiaalsete geeniteraapia lähenemisviiside kohta, mis on suunatud MDS-i diferentseerumisdefektidele.

Lisaks geneetilistele ja funktsionaalsetele uuringutele on MDS-L olnud oluline histooni modifikatsioonide rolli iseloomustamisel haiguse progresseerumisel. Tähelepanuväärne on, et histooni H3-K27M mutatsioon, mis on tavaliselt seotud laste glioomidega, kuid haruldane hematoloogilistes pahaloomulistes kasvujärges, identifitseeriti MDS-L-is ja leiti, et see pärsib EZH2-vahendatud histooni metülatsiooni. See epigeneetiline muutus viis H3-K27 metülatsiooni laialdasele vähenemisele ja oli seotud muutunud ekspressiooniga kasvajakasvaste geenide, nagu p16, puhul. MDS-L alaliinid, millel on või ei ole seda mutatsiooni, mis on saadud diferentsiaalsete IL-3 kultiveerimistingimuste kaudu, on võimaldanud täiendavalt uurida epigeneetilist heterogeensust MDS-is ja selle mõju IL-3-sõltuvale kasvule ja ravivastusele. Need unikaalsed omadused muudavad MDS-L-i võimaks in vitro ja in vivo mudeliks MDS-i molekulaarse evolutsiooni ja ravi sihtmärgistamise ning selle muutumise ägedaks müeloidleukeemiaks uurimiseks.

Organism Inimene

Tissue Lüüdi

Disease Müelodüsplastiline sündroom

Synonyms MDSL

Omadused

Age 52 aastat

MDS-L rakud | 305826

Gender Mees

Ethnicity Jaapani

Growth properties Peatamine

Regulatiivsed andmed

Citation MDS-L (Cytioni katalooginumber 305826)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_A8QV

Biomolekulaarsed andmed

Mutational profile Mutatsioon: CEBPA, lihtne, p.Gln311Ter (c.931C>T), heterosügootne, H3C3, lihtne, p.Lys28Met (c.83A>T), heterosügootne, NRAS, lihtne, p.Gly12Ala (c.35G>C), heterosügootne, TP53, lihtne, c.672+1G>A, homosügootne, märkus = splaiisingu doonormutatsioon

Töötlemine

Culture Medium RPMI 1640, w: 2,0 mM stabiilne glutamiin, w: 2,0 g/L NaHCO₃ (Cytioni artikli number 820700a)

Supplements Täiendage keskkonda 10% FBS-ga ja 20 ng/ml IL-3 inimese rekombinantse valgu

Dissociation Reagent Puudub

Freeze medium Krüosäilitusvedelikusena kasutame täielikku kasvukeskkonda (sh FBS) + 10% DMSO, et tagada piisav elujõulisus pärast sulatamist, või CM-1 (Cytioni katalooginumber 800100), mis sisaldab optimeeritud osmoprotektante ja metaboolseid stabilisaatoreid, et parandada taastumist ja vähendada krüostressi.

MDS-L rakud | 305826

Thawing and Culturing Cells

1. Veenduge, et vial jääb tarnimisel sügavkülmutatud, sest rakud transporditakse kuiva jääga, et säilitada optimaalne temperatuur transpordi ajal.
2. Pärast kättesaamist säilitage krüoviaal kas kohe temperatuuril alla $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, et tagada rakkude terviklikkuse säilimine, või jätkake sammuga 3, kui on vaja koheselt kultiveerida.
3. Kohese kultiveerimise korral sulatage viali kiiresti, kastes selle $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ veevanni puhta vee ja antimikroobse ainega, segades seda õrnalt 40-60 sekundit, kuni alles jääb väike jääklomp.
4. Tehke kõik järgmised toimingud steriilsetes tingimustes vooluhoodis, desinfitseerides krüoviaal enne avamist 70% etanooliga.
5. Avage desinfitseeritud viali ettevaatlikult ja viige rakususpensioon ettevaatlikult segades 15 ml tsentrifuugitorusse, mis sisaldab 8 ml toatemperatuuril olevat kasvukeskkonda.
6. Rakkude eraldamiseks tsentrifuugige segu $300 \times g$ juures 3 minutit ja visake ülejäänud külmutusvedelikku sisaldav supernatant ettevaatlikult ära.
7. Resuspendeerige rakupellet ettevaatlikult 10 ml värskes kasvukeskkonnas. Adhereerivate rakkude puhul jagage suspensioon kahe T25 kultuurkolvi vahel; suspensioonikultuuride puhul kandke kogu söötme keskkond ühte T25 kolbi, et soodustada rakkude tõhusat koostoimet ja kasvu.
8. Järgige kehtestatud subkultuuriprotokolle rakuliini jätkuvaks kasvuks ja säilitamiseks, tagades usaldusväärsed katsetulemused.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , niisutatud atmosfäär.

Flask Coating

Puudub

Shipping Conditions

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

Storage Conditions

Pikaajaliseks säilitamiseks asetage vialid aurufaasis vedela lämmastikuga umbes -150 kuni $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$ juures. Säilitamine temperatuuril $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ on vastuvõetav ainult lühikese vaheetapina enne vedela lämmastikuga üleviimist.

Kvaliteedikontroll / Geneetiline profiil / HLA

MDS-L rakud | 305826

Sterility

Mükoplasmakontaminatsioon on välistatud nii PCR-põhiste analüüside kui ka luminesentsil põhinevate mükoplasma tuvastamise meetodite abil.

Bakteriaalse, seene- või pärmsaaste puudumise tagamiseks kontrollitakse rakukultuure iga päev visuaalselt.