

MDS-L-solut | 305826

Yleisiä tietoja

Description

MDS-L on ihmisen myelodysplastisesta oireyhtymästä (MDS) peräisin oleva solulinja, joka on alun perin perustettu MDS92-solulinjasta, joka puolestaan on peräisin MDS-potilaan luuytimeistä, jolla oli del(5q)-kromosomipoikkeavuus. MDS92 sisälsi heterogeenisen sekoituksen erilaistumisvaiheessa olevia myeloidisoluja, kun taas MDS-L edustaa blastista alalinjaa, jolla on yhtenäisemmät ominaisuudet, jotka ovat tyypillisiä epäkypsille myeloidisille esisoluille. MDS-L säilyttää interleukiini-3:n (IL-3) riippuvuuden proliferaatiossa in vitro, mikä heijastaa primaaristen MDS-esisolujen sytokiinin herkkyyttä. Linjassa on useita geneettisiä muutoksia, mukaan lukien homotsygoottiset TP53-mutaatio ja lisämuutokset NRAS- ja CEBPA-geeneissä. Nämä muutokset heijastavat yhdessä klonaalista evoluutiota ja leukemian transformaatiopotentiaalia, jotka ovat tyypillisiä korkean riskin MDS:lle.

MDS-L:ää on käytetty laajasti mallina MDS:n patogeneesin, erilaistumisen eston ja terapeuttisen resistenssin taustalla olevien molekyyli-mekanismien tutkimiseen. Yksi merkittävä MDS-L:ää käyttäen tehty havainto oli se, että retroviraalisen transduktion avulla aikaansaatu granulosityttikasvutekijän reseptorin (G-CSFR) pakotettu ilmentyminen mahdollisti granulosityttien erilaistumisen G-CSF-stimulaation seurauksena. Tämä todettiin morfologisilla muutoksilla, lisääntyneellä CD11b-ilmentymällä ja lisääntyneellä nitroblue tetrazolium (NBT) -pelkistysaktiivisuudella, jotka viittaavat granulosityttien lopulliseen kypsymiseen. Nämä tulokset paljastivat MDS-L:n sisäisen kyvyn erilaistua, jos asianmukaiset signaalintekomponentit palautuvat, ja tarjosivat tietoa mahdollisista geeniterapia-lähestymistavoista, jotka kohdistuvat MDS:n erilaistumisvirheisiin.

Geneettisten ja toiminnallisten tutkimusten lisäksi MDS-L on ollut keskeisessä asemassa histonimuutosten roolin karakterisoinnissa taudin etenemisessä. Erityisesti histoni H3-K27M-mutaatio, joka liittyy yleisesti lasten glioomiin mutta on harvinainen hematologisissa pahanlaatuisissa sairauksissa, tunnistettiin MDS-L:ssä ja sen havaittiin estävän EZH2-välitteistä histonien metylaatiota. Tämä epigeneettinen muutos johti H3-K27-metylaation laajamittaiseen vähenemiseen ja liittyi p16:n kaltaisten tuumorisuppressorigeenien muuttuneeseen ilmentymiseen. MDS-L-alalinjat, joissa on tai ei ole tätä mutaatiota – joka on saatu aikaan erilaisilla IL-3-viljelyolosuhteilla – ovat mahdollistaneet MDS:n epigeneettisen heterogeenisyyden ja sen vaikutusten IL-3-riippuvaiseen kasvuun ja terapeuttiseen vasteeseen tutkimisen. Nämä ainutlaatuiset ominaisuudet tekevät MDS-L:stä tehokkaan in vitro- ja in vivo -mallin MDS:n molekyylikehityksen ja terapeuttisen kohdentamisen sekä sen muuttumisen akuutiksi myelooiseksi leukemiaksi tutkimiseen.

Organism Ihminen

Tissue Luuydin

Disease Myelodysplastinen oireyhtymä

Synonyms MDSL

Ominaisuudet

Age 52 vuotta

Gender Mies

MDS-L-solut | 305826

Ethnicity	Japanilainen
------------------	--------------

Growth properties	Jousitus
--------------------------	----------

Säätelytiedot

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

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

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

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

Biomolekyyli tiedot

Mutational profile	Mutaatio: CEBPA, yksinkertainen, p.Gln311Ter (c.931C>T), heterotsygoottinen, H3C3, yksinkertainen, p.Lys28Met (c.83A>T), heterotsygoottinen, NRAS, yksinkertainen, p.Gly12Ala (c.35G>C), heterotsygoottinen, TP53, yksinkertainen, c.672+1G>A, homotsygoottinen, huomautus = splice-donorimutaatio
---------------------------	--

Käsittely

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM stabiilia glutamiinia, w: 2,0 g/L NaHCO3 (Cytionin artikkelinumero 820700a)
-----------------------	--

Supplements	Lisää väliaineeseen 10 % FBS ja 20 ng/ml IL-3 ihmisen rekombinanttia.
--------------------	---

Dissociation Reagent	Ei mitään
-----------------------------	-----------

Freeze medium	Kryosäilytysmediana käytämme täydellistä kasvualustaa (mukaan lukien FBS) + 10 % DMSO:ta riittävän sulatuksen jälkeisen elinkelpoisuuden varmistamiseksi tai CM-1:tä (Cytionin luettelunumero 800100), joka sisältää optimoituja osmoprotektantteja ja metabolisia stabilisaattoreita, jotka parantavat elpymistä ja vähentävät kryosäilytyksen aiheuttamaa stressiä.
----------------------	---

MDS-L-solut | 305826

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Varmista, että injektiopullo pysyy syväjäädetyttynä toimitettaessa, sillä solut kuljetetaan kuivajäässä, jotta optimaalinen lämpötila säilyy kuljetuksen aikana.
2. Vastaanotettaessa kryopullo joko säilytetään välittömästi alle -150 °C:n lämpötilassa solujen eheyden säilyttämiseksi tai edetään vaiheeseen 3, jos tarvitaan välitöntä viljelyä.
3. Välitöntä viljelyä varten sulata injektiopullo nopeasti upottamalla se 37 °C:n vesihauteeseen, jossa on puhdasta vettä ja antimikrobista ainetta, ja sekoittamalla sitä varovasti 40-60 sekunnin ajan, kunnes jäästä on jäljellä pieni jäämöhkäle.
4. Suorita kaikki seuraavat vaiheet steriileissä olosuhteissa virtaushupussa ja desinfioi kryopullo 70-prosenttisellä etanolilla ennen avaamista.
5. Avaa desinfioitu injektiopullo varovasti ja siirrä solususpensio 15 ml:n sentrifugiputkeen, joka sisältää 8 ml huoneenlämpöistä elatusainetta, varovasti sekoittaen.
6. Sentrifugoi seosta 300 x g:n voimakkuudella 3 minuutin ajan solujen erottamiseksi ja hävitä varovasti supernatantti, joka sisältää jäännöspakastusmediumia.
7. Suspendoidaan solupelletti varovasti uudelleen 10 ml:aan tuoretta elatusainetta. Jos solut ovat tarttuvia, jaa suspensio kahden T25-kolvin kesken; jos kyseessä ovat suspensioviljelmät, siirrä kaikki väliaine yhteen T25-kolviin solujen tehokkaan vuorovaikutuksen ja kasvun edistämiseksi.
8. Noudata vakiintuneita aliviljelyprotokollia solulinjan jatkuvan kasvun ja ylläpidon varmistamiseksi ja luotettavien kokeellisten tulosten varmistamiseksi.

**Incubation
Atmosphere**

37 °C, 5 % CO_2 , kostutettu ilmakehä.

Flask Coating

Ei mitään

**Shipping
Conditions**

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäässä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

**Storage
Conditions**

Pitkäaikaissäilytystä varten injektiopullot asetetaan höyryfaasissa olevaan nestemäiseen tyypeen noin -150 - -196 °C:een. Säilytys -80 °C:ssa on hyväksyttävää vain lyhyenä välivaiheena ennen siirtoa nestemäiseen tyypeen.

Laadunvalvonta / Geneettinen profiili / HLA

MDS-L-solut | 305826

Sterility

Mykoplasmakontaminaatio suljetaan pois sekä PCR-pohjaisilla määrityksillä että luminesenssiin perustuvilla mykoplasman osoitusmenetelmillä.

Bakteeri-, sieni- tai hiivakontaminaation välttämiseksi soluviljelmät tarkastetaan päivittäin silmämääräisesti.