Product sheet

Cellules MDS-L | 305826

Informations générales

Description	MDS-L est une lignée cellulaire dérivée du syndrome myélodysplasique (SMD) humain, initialement établie à partir de la lignée cellulaire MDS92, elle-même dérivée de la moelle osseuse d'un patient atteint de SMD présentant une anomalie chromosomique del(5q). Alors que MDS92 contenait un mélange hétérogène de cellules myéloïdes à différents stades de différenciation, MDS-L représente une sous-lignée blastique présentant des caractéristiques plus uniformes propres aux cellules progénitrices myéloïdes immatures. MDS-L conserve une dépendance à l'interleukine-3 (IL-3) pour sa prolifération in vitro, reflétant la sensibilité aux cytokines observée dans les cellules progénitrices primaires du SMD. La lignée présente de multiples altérations génétiques, notamment des mutations homozygotes du gène TP53 et des mutations acquises supplémentaires dans les gènes NRAS et CEBPA. Ces altérations reflètent collectivement l'évolution clonale et le potentiel de transformation leucémique typiques du SMD à haut risque. Le MDS-L a été largement utilisé comme modèle pour étudier les mécanismes moléculaires sous-jacents à la pathogenèse du SMD, au blocage de la différenciation et à la résistance thérapeutique. L'une des découvertes importantes réalisées à l'aide du MDS-L a été la démonstration que l'expression forcée du récepteur du facteur de stimulation des colonies de granulocytes (G-CSFR) via la transduction rétrovirale permettait la différenciation granulocytaire après stimulation par le G-CSF. Cela a été mis en évidence par des changements morphologiques, une augmentation de l'expression du CD11b et une activité de réduction du nitrobleu tétrazolium (NBT) accrue, indiquant une maturation granulocytaire terminale. Ces résultats ont révélé la capacité intrinsèque du SMD-L à se différencier si les composants de signalisation appropriés sont restaurés, offrant ainsi un aperçu des approches potentielles de thérapie génique ciblant les défauts de différenciation dans le SMD. Outre les études génétiques et fonctionnelles, le MDS-L a joué un rôle déterminant dans la caractérisation du rôle des modifications des histones dans la progression de la maladie. Notamment, la mutation de l'histone H3-K27M, couramment associée aux gliomes pédiatriques mais rare dans les hémopathies malignes, a été identifiée dans le MDS-L et s'est avérée inhiber la méthylation des histones médiée par EZH2. Cette altération épigénétique a entraîné une réduction généralisée de la méthylation de H3-K27 et a été liée à une expression altérée des gènes suppresseurs de tumeurs tels que p16. Les sous-lignées MDS-L avec ou sans cette mutation, dérivées de conditions de culture IL-3 différentielles, ont permis d'explorer plus avant l'hétérogénéité épigénétique au sein du SMD et ses implications pour la croissance dépendante de l'IL-3 et la réponse thérapeutique. Ces propriétés uniques font du MDS-L un modèle in vitro et in vivo puissant pour étudier l'évolution moléculaire et le ciblage thérapeutique du SMD et sa transformation en leucémie myéloïde aiguë.
Organism	Humain
Tissue	Moelle osseuse
Disease	Syndrome myélodysplasique
Synonyms	MDSL

Caractéristiques

Age	52 ans

Product sheet

Cellules MDS-L | 305826

Gender	Homme
Ethnicity	Japonais
Growth properties	Suspension

Données réglementaires

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

Données biomoléculaires

Mutational profile	Mutation : CEBPA, simple, p.Gln311Ter (c.931C>T), hétérozygote, H3C3, simple, p.Lys28Met (c.83A>T), hétérozygote, NRAS, simple, p.Gly12Ala (c.35G>C), hétérozygote, TP53, simple, c.672+1G>A, homozygote, Remarque = mutation du donneur d'épissage

Manipulation

Culture Medium	RPMI 1640, w : 2.0 mM Glutamine stable, w : 2.0 g/L NaHCO3 (numéro d'article Cytion 820700a)
Supplements	Compléter le milieu avec 10 % de FBS et 20 ng/ml d'IL-3 humaine recombinante.
Dissociation Reagent	Aucun
Freeze medium	Comme milieu de cryoconservation, nous utilisons un milieu de croissance complet (comprenant du FBS) + 10 % de DMSO pour une viabilité adéquate après décongélation, ou CM-1 (numéro de catalogue 800100 de Cytion), qui comprend des osmoprotectants et des stabilisateurs métaboliques optimisés pour améliorer la récupération et réduire le stress induit par la cryogénisation.

Cellules MDS-L | 305826

Thawing and Culturing Cells

1. Confirmer que le flacon est toujours congelé à la livraison, car les cellules sont expédiées sur de la glace sèche pour maintenir des températures optimales pendant le transport.

2. Dès réception, soit conserver immédiatement le cryovial à des températures inférieures à -150°C pour assurer la préservation de l'intégrité cellulaire, soit passer à l'étape 3 si une mise en culture immédiate est nécessaire.

3. Pour une mise en culture immédiate, décongeler rapidement le flacon en l'immergeant dans un bain-marie à 37°C avec de l'eau propre et un agent antimicrobien, en l'agitant doucement pendant 40 à 60 secondes jusqu'à ce qu'il ne reste qu'un petit amas de glace.

4. Effectuer toutes les étapes suivantes dans des conditions stériles sous une hotte à flux, en désinfectant le cryovial avec de l'éthanol à 70 % avant de l'ouvrir.

5. Ouvrir soigneusement le flacon désinfecté et transférer la suspension cellulaire dans un tube à centrifuger de 15 ml contenant 8 ml de milieu de culture à température ambiante, en mélangeant doucement.

6. Centrifuger le mélange à 300 x g pendant 3 minutes pour séparer les cellules et jeter soigneusement le surnageant contenant le milieu de congélation résiduel.

7. Remettre doucement en suspension le culot cellulaire dans 10 ml de milieu de culture frais. Pour les cellules adhérentes, répartir la suspension entre deux flacons de culture T25 ; pour les cultures en suspension, transférer tout le milieu dans un seul flacon T25 afin de favoriser une interaction et une croissance efficaces des cellules.

8. Respecter les protocoles de sous-culture établis pour une croissance et un entretien continus de la lignée cellulaire, garantissant ainsi des résultats expérimentaux fiables.

Incubation Atmosphere

37°C, 5%$_{CO2}$, atmosphère humidifiée.

Flask Coating

Aucun

Shipping Conditions

Les lignées cellulaires cryoconservées sont expédiées sur glace sèche dans des emballages isolés et validés, avec suffisamment de réfrigérant pour maintenir une température d'environ -78 °C tout au long du transport. À la réception, inspecter immédiatement le conteneur et transférer sans délai les flacons dans un lieu de stockage approprié.

Storage Conditions	Pour une conservation à long terme, placer les flacons dans de l'azote liquide en phase vapeur à une température comprise entre -150 et -196 °C environ. Le stockage à -80 °C n'est acceptable qu'en tant qu'étape intermédiaire de courte durée avant le transfert dans l'azote liquide.

Contrôle qualité et analyse moléculaire

Sterility	La contamination par les mycoplasmes est exclue à l'aide de tests basés sur la PCR et de méthodes de détection des mycoplasmes basées sur la luminescence. Pour s'assurer de l'absence de contamination bactérienne, fongique ou levurienne, les cultures cellulaires font l'objet d'inspections visuelles quotidiennes.