Product sheet

Cellule MDS-L | 305826

Informazioni generali

Description	MDS-L è una linea cellulare derivata dalla sindrome mielodisplastica umana (MDS), originariamente creata dalla linea cellulare MDS92, a sua volta derivata dal midollo osseo di un paziente affetto da MDS che presentava un'anomalia cromosomica del(5q). Mentre MDS92 conteneva un mix eterogeneo di cellule mieloidi in vari stadi di differenziazione, MDS-L rappresenta una sottolinia blastica con caratteristiche più uniformi tipiche delle cellule progenitrici mieloidi immature. MDS-L mantiene la dipendenza dall'interleuchina-3 (IL-3) per la proliferazione in vitro, rispecchiando la sensibilità alle citochine osservata nelle cellule progenitrici MDS primarie. La linea presenta molteplici alterazioni genetiche, tra cui mutazioni omozigoti TP53 e ulteriori mutazioni acquisite in NRAS e CEBPA. Queste alterazioni riflettono collettivamente l'evoluzione clonale e il potenziale di trasformazione leucemica tipici della MDS ad alto rischio. L'MDS-L è stato ampiamente utilizzato come modello per studiare i meccanismi molecolari alla base della patogenesi dell'MDS, del blocco della differenziazione e della resistenza terapeutica. Una scoperta significativa ottenuta utilizzando l'MDS-L è stata la dimostrazione che l'espressione forzata del recettore del fattore stimolante le colonie di granulociti (G-CSFR) tramite trasduzione retrovirale ha consentito la differenziazione granulocitica in seguito alla stimolazione con G-CSF. Ciò è stato evidenziato da cambiamenti morfologici, aumento dell'espressione di CD11b e aumento dell'attività di riduzione del nitroblu tetrazolio (NBT), indicativa della maturazione terminale dei granulociti. Questi risultati hanno rivelato la capacità intrinseca dell'MDS-L di differenziarsi se vengono ripristinati i componenti di segnalazione appropriati, offrendo spunti di riflessione su potenziali approcci di terapia genica mirati ai difetti di differenziazione nell'MDS. Oltre agli studi genetici e funzionali, MDS-L è stato fondamentale per caratterizzare il ruolo delle modificazioni degli istoni nella progressione della malattia. In particolare, la mutazione dell'istone H3-K27M, comunemente associata ai gliomi pediatrici ma rara nelle neoplasie ematologiche, è stata identificata nell'MDS-L e si è scoperto che inibisce la metilazione dell'istone mediata da EZH2. Questa alterazione epigenetica ha portato a una riduzione diffusa della metilazione di H3-K27 ed è stata collegata all'alterazione dell'espressione di geni oncosoppressori come p16. Le sottolinee MDS-L con o senza questa mutazione, derivate da condizioni di coltura IL-3 differenziali, hanno consentito un'ulteriore esplorazione dell'eterogeneità epigenetica all'interno della MDS e delle sue implicazioni per la crescita IL-3-dipendente e la risposta terapeutica. Queste proprietà uniche rendono la MDS-L un potente modello in vitro e in vivo per lo studio dell'evoluzione molecolare e del targeting terapeutico della MDS e della sua trasformazione in leucemia mieloide acuta.
Organism	Umano
Tissue	Midollo osseo
Disease	Sindrome mielodisplastica
Synonyms	MDSL

Caratteristiche

Age	52 anni

Cellule MDS-L | 305826

Gender	Uomo
Ethnicity	Giapponese
Growth properties	Sospensione

Dati normativi

Citation	MDS-L (numero di catalogo Cytion 305826)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_A8QV

Dati biomolecolari

Mutational profile	Mutazione: CEBPA, semplice, p.Gln311Ter (c.931C>T), eterozigote, H3C3, semplice, p.Lys28Met (c.83A>T), eterozigote, NRAS, semplice, p.Gly12Ala (c.35G>C), eterozigote, TP53, semplice, c.672+1G>A, omozigote, nota=mutazione donatrice di splicing

Manipolazione

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM di glutammina stabile, w: 2,0 g/L di NaHCO3 (articolo Cytion numero 820700a)
Supplements	Aggiungere al mezzo il 10% di FBS e 20 ng/ml di IL-3 ricombinante umana.
Dissociation Reagent	Nessuno
Freeze medium	Come terreno di crioconservazione, utilizziamo un terreno di crescita completo (incluso FBS) + 10% DMSO per un'adeguata vitalità post-scongelamento, o CM-1 (numero di catalogo Cytion 800100), che include osmoprotettori e stabilizzatori metabolici ottimizzati per migliorare il recupero e ridurre lo stress crio-indotto.

Cellule MDS-L | 305826

Thawing and Culturing Cells

1. Verificare che la fiala rimanga profondamente congelata al momento della consegna, poiché le cellule vengono spedite con ghiaccio secco per mantenere le temperature ottimali durante il trasporto.
2. Al ricevimento, conservare immediatamente la criovial a temperature inferiori a -150°C per garantire la conservazione dell'integrità cellulare, oppure procedere al punto 3 se è necessaria una coltura immediata.
3. Per la coltura immediata, scongelare rapidamente la fiala immergendola in un bagno d'acqua a 37°C con acqua pulita e un agente antimicrobico, agitando delicatamente per 40-60 secondi finché non rimane un piccolo grumo di ghiaccio.
4. Eseguire tutte le fasi successive in condizioni di sterilità in una cappa a flusso, disinfettando la criovial con etanolo al 70% prima dell'apertura.
5. Aprire con cautela la fiala disinfettata e trasferire la sospensione cellulare in una provetta da centrifuga da 15 ml contenente 8 ml di terreno di coltura a temperatura ambiente, mescolando delicatamente.
6. Centrifugare la miscela a 300 x g per 3 minuti per separare le cellule e scartare con cura il surnatante contenente il terreno di coltura residuo.
7. Risospendere delicatamente il pellet cellulare in 10 ml di terreno di coltura fresco. Per le cellule aderenti, dividere la sospensione tra due fiasche di coltura T25; per le colture in sospensione, trasferire tutto il terreno in una fiasca T25 per promuovere l'interazione e la crescita delle cellule.
8. Attenersi ai protocolli di subcoltura stabiliti per la crescita e il mantenimento continui della linea cellulare, garantendo risultati sperimentali affidabili.

Incubation Atmosphere

37°C, 5%$_{CO2}$, atmosfera umidificata.

Flask Coating

Nessuno

Shipping Conditions

Le linee cellulari crioconservate vengono spedite su ghiaccio secco in confezioni isolate e convalidate, con una quantità di refrigerante sufficiente a mantenere circa -78 °C durante il trasporto. Al ricevimento, ispezionare immediatamente il contenitore e trasferire immediatamente le fiale in un luogo di conservazione appropriato.

Storage Conditions

Per la conservazione a lungo termine, porre le fiale in azoto liquido in fase vapore a una temperatura compresa tra -150 e -196 °C circa. La conservazione a -80 °C è accettabile solo come breve fase intermedia prima del trasferimento in azoto liquido.

Controllo qualità e analisi molecolare

Sterility

La contaminazione da micoplasma viene esclusa utilizzando sia saggi basati sulla PCR sia metodi di rilevamento del micoplasma basati sulla luminescenza.

Per garantire l'assenza di contaminazione batterica, fungina o da lieviti, le colture cellulari sono sottoposte a ispezioni visive quotidiane.