

## MDS-L ląstelės | 305826

## Bendra informacija

## Description

MDS-L yra žmogaus mielodisplastinio sindromo (MDS) kilusi ląstelių linija, iš pradžių sukurta iš MDS92 ląstelių linijos, kuri pati buvo gauta iš MDS sergančio paciento, turinčio del(5q) chromosomų anomaliją, kaulų čiulpų. Nors MDS92 sudarė heterogeninis mieloidinių ląstelių, esančių įvairiuose diferenciacijos etapuose, mišinys, MDS-L yra blastinė sublinija, turinti vienodesnes savybes, būdingas nesubrendusioms mieloidinėms progenitorinėms ląstelėms. MDS-L išlaiko interleukino-3 (IL-3) priklausomybę proliferacijai in vitro, atspindėdama citokinų jautrumą, pastebimą pirminėse MDS progenitorinėse ląstelėse. Linija turi daug genetinių pokyčių, įskaitant homozigotines TP53 mutacijas ir papildomas įgytas mutacijas NRAS ir CEBPA. Šie pokyčiai kartu atspindi kloninę evoliuciją ir leukemijos transformacijos potencialą, būdingą didelės rizikos MDS.

MDS-L buvo plačiai naudojamas kaip modelis MDS patogenezės, diferenciacijos blokavimo ir terapinio atsparumo molekulinėms mechanizms tirti. Vienas reikšmingas atradimas, naudojant MDS-L, buvo įrodymas, kad priverstinis granulocitų kolonijas stimuliuojančio faktoriaus receptoriaus (G-CSFR) ekspresija per retrovirusinę transdukciją leido granulocitų diferenciaciją po G-CSF stimuliacijos. Tai patvirtino morfologiniai pokyčiai, padidėjusi CD11b ekspresija ir sustiprėjusi nitroblue tetrazolium (NBT) redukcijos aktyvumas, rodantis galutinį granulocitų brendimą. Šie rezultatai atskleidė MDS-L vidinį gebėjimą diferencijuotis, jei atkuriami atitinkami signalizacijos komponentai, ir suteikė įžvalgų apie galimus genų terapijos metodus, nukreiptus į MDS diferenciacijos defektus.

Be genetinių ir funkcinų tyrimų, MDS-L buvo labai svarbus charakterizuojant histonų modifikacijų vaidmenį ligos progresavime. Pažymėtina, kad histono H3-K27M mutacija, paprastai siejama su vaikų gliomomis, bet reta hematologinėse piktybinėse ligose, buvo identifikuota MDS-L ir nustatyta, kad ji slopina EZH2 mediatorių histono metilinimą. Šis epigenetinis pokytis lėmė plačiai paplitusį H3-K27 metilinimo sumažėjimą ir buvo susijęs su pakitusiais naviko slopinančių genų, pvz., p16, ekspresija. MDS-L sublinijos su šia mutacija arba be jos, gautos skirtingomis IL-3 kultivavimo sąlygomis, leido toliau tirti epigenetinę heterogeniškumą MDS ir jo reikšmę IL-3 priklausomam augimui ir terapiniam atsakui. Šios unikali savybės daro MDS-L galingu in vitro ir in vivo modeliu, skirtam tirti MDS molekulinę evoliuciją ir terapinį taikymą bei jo transformaciją į ūminę mieloidinę leukemiją.

**Organism** Žmogus

**Tissue** Kaulų čiulpai

**Disease** Mielodisplastinis sindromas

**Synonyms** MDSL

## Charakteristikos

**Age** 52 metai

**Gender** Vyras

**Ethnicity** Japonų

## MDS-L ląstelės | 305826

**Growth properties** Pakaba

## Reguliavimo duomenys

**Citation** MDS-L (Cytion katalogo numeris 305826)

**Biosafety level** 1

**NCBI\_TaxID** 9606

**CellosaurusAccession** CVCL\_A8QV

## Biomolekuliniai duomenys

**Mutational profile** Mutacija: CEBPA, paprasta, p.Gln311Ter (c.931C>T), heterozigotinė, H3C3, paprasta, p.Lys28Met (c.83A>T), heterozigotinė, NRAS, paprasta, p.Gly12Ala (c.35G>C), heterozigotinis, TP53, paprastas, c.672+1G>A, homozigotinis, pastaba = splice donoro mutacija

## Tvarkymas

**Culture Medium** RPMI 1640, š: 2,0 mM stabilus glutaminas, š: 2,0 g/L NaHCO<sub>3</sub> (Cytion gaminio numeris 820700a)

**Supplements** Papildykite terpę 10 % FBS ir 20 ng/ml IL-3 žmogaus rekombinantiniu baltymu.

**Dissociation Reagent** Nėra

**Freeze medium** Kaip kriokonservavimo terpę naudojame visišką augimo terpę (įskaitant FBS) + 10 % DMSO, kad būtų užtikrintas tinkamas gyvybingumas po atšildymo, arba CM-1 (Cytion katalogo numeris 800100), kurioje yra optimizuotų osmoprotektorių ir medžiagų apykaitos stabilizatorių, kad būtų pagerintas atsigavimas ir sumažintas kriokonservavimo sukeltas stresas.

## MDS-L ląstelės | 305826

### Thawing and Culturing Cells

1. Patikrinkite, ar pristatant buteliuką jis išlieka gerai užšaldytas, nes ląstelės gabenamos ant sauso ledo, kad gabenimo metu būtų palaikoma optimali temperatūra.
2. Gavę iš karto laikykite kriovialą žemesnėje nei  $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$  temperatūroje, kad užtikrintumėte ląstelių vientisumo išsaugojimą, arba pereikite prie 3 veiksmo, jei reikia nedelsiant kultivuoti.
3. Jei norite nedelsiant pradėti kultivuoti, greitai atšildykite buteliuką panardindami jį į  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$  temperatūros vandens vonelę su švariu vandeniu ir antimikrobine priemone, švelniai maišydami 40-60 sekundžių, kol liks nedidelis ledo gabalėlis.
4. Visus tolesnius veiksmus atlikite steriliomis sąlygomis srauto gaubte, prieš atidarydami kriovialą dezinfekuokite jį 70 % etanoliu.
5. Atsargiai atidarykite dezinfekuotą buteliuką ir perpilkite ląstelių suspensiją į 15 ml centrifugos mėgintuvėlį, kuriame yra 8 ml kambario temperatūros mitybinės terpės, atsargiai išmaišykite.
6. Mišinį centrifuguokite 300 x g greičiu 3 minutes, kad atsiskirtų ląstelės, ir atsargiai išmeskite supernatantą su šaldymo terpės likučiais.
7. Švelniai resuspenduokite ląstelių granules 10 ml šviežios mitybinės terpės. Jei ląstelės yra prigludusios, suspensiją padalykite į dvi T25 kolbas; jei tai suspensinės kultūros, visą terpę perkelti į vieną T25 kolbą, kad paskatintumėte veiksmingą ląstelių sąveiką ir augimą.
8. Laikykitės nustatytų subkultūrų protokolų, kad ląstelių linija nuolat augtų ir būtų palaikoma, taip užtikrinant patikimus eksperimentų rezultatus.

### Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$ , 5 %  $\text{CO}_2$ , drėkintoje atmosferoje.

### Flask Coating

Nėra

### Shipping Conditions

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$  temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelti mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

### Storage Conditions

Norėdami ilgai saugoti, įdėkite buteliukus į garų fazės skystą azotą maždaug  $-150\text{--}196\text{ }^{\circ}\text{C}$  temperatūroje. Laikymas  $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$  temperatūroje yra priimtinas tik kaip trumpas tarpinis etapas prieš perkelti į skystąjį azotą.

## Kokybės kontrolė / Genetinis profilis / HLA

**MDS-L ląstelės | 305826**

**Sterility**

Mikoplazmos užterštumas atmetamas taikant PGR pagrįstus tyrimus ir liuminescencinius mikoplazmos aptikimo metodus.

Siekiant užtikrinti, kad nebūtų užteršimo bakterijomis, grybeliais ar mielėmis, ląstelių kultūros kasdien vizualiai tikrinamos.