

MDS-L šūnas | 305826

Vispārīga informācija

Description

MDS-L ir cilvēka mielodisplastiskā sindroma (MDS) atvasināta šūnu līnija, kas sākotnēji izveidota no MDS92 šūnu līnijas, kura pati bija atvasināta no MDS pacienta kaulu smadzenēm, kurām bija del(5q) hromosomu anomālija. Kamēr MDS92 saturēja heterogēnu mieloīdo šūnu maisījumu dažādos diferenciācijas posmos, MDS-L pārstāv blastisko sublīniju ar vienotākām pazīmēm, kas raksturīgas nenobriedušām mieloīdo progenitorajām šūnām. MDS-L saglabā interleikīna-3 (IL-3) atkarību proliferācijai in vitro, atspoguļojot citokīnu jutību, kas novērota primārajās MDS progenitor šūnās. Līnija satur vairākas ģenētiskas izmaiņas, tostarp homozigotas TP53 mutācijas un papildu iegūtās mutācijas NRAS un CEBPA. Šīs izmaiņas kopumā atspoguļo klonālo evolūciju un leukēmijas transformācijas potenciālu, kas raksturīgs augsta riska MDS.

MDS-L ir plaši izmantots kā modelis, lai pētītu molekulāros mehānismus, kas ir MDS patogēzes, diferenciācijas bloķēšanas un terapeitiskās rezistences pamatā. Viens no nozīmīgiem atklājumiem, izmantojot MDS-L, bija pierādījums, ka granulocītu koloniju stimulējošā faktora receptora (G-CSFR) piespiedu ekspresija ar retrovirālas transdukcijas palīdzību ļāva granulocītu diferenciāciju pēc G-CSF stimulācijas. To pierādīja morfoloģiskas izmaiņas, palielināta CD11b ekspresija un pastiprināta nitroblue tetrazolium (NBT) redukcijas aktivitāte, kas liecina par granulocītu galīgo nobriešanu. Šie rezultāti atklāja MDS-L iekšējo spēju diferenciēties, ja tiek atjaunotas atbilstošās signālkomponentes, sniedzot ieskatu potenciālās gēnu terapijas pieejās, kas vērstas uz diferenciācijas defektiem MDS.

Papildus ģenētiskajiem un funkcionālajiem pētījumiem, MDS-L ir bijis nozīmīgs histonu modifikāciju lomas raksturošanā slimības progresēšanā. Jāatzīmē, ka histona H3-K27M mutācija, kas parasti saistīta ar pediatriem gliomiem, bet reti sastopama hematoloģiskās malignitātēs, tika identificēta MDS-L un tika konstatēts, ka tā inhibē EZH2-mediētu histona metilāciju. Šī epigenētiskā izmaiņa izraisīja plašu H3-K27 metilācijas samazināšanos un bija saistīta ar izmainītu ekspresiju tādiem audzēju supresoru gēniem kā p16. MDS-L apakšlīnijas ar vai bez šīs mutācijas, kas iegūtas diferencētos IL-3 kultivēšanas apstākļos, ir ļāvušas turpināt pētīt epigenētisko heterogenitāti MDS un tās ietekmi uz IL-3 atkarīgo augšanu un terapeitisko reakciju. Šīs unikālās īpašības padara MDS-L par spēcīgu in vitro un in vivo modeli MDS molekulārās evolūcijas un terapeitiskās mērķtiecības pētīšanai, kā arī tā transformācijai akūtā mieloīdā leukēmijā.

Organism Cilvēks

Tissue Kaulu smadzenes

Disease Mielodisplastiskais sindroms

Synonyms MDSL

Raksturojums

Age 52 gadi

Gender Vīrieši

Ethnicity Japāņu

MDS-L šūnas | 305826

Growth properties Apturēšana

Normatīvie dati

Citation MDS-L (Cytion kataloga numurs 305826)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_A8QV

Biomolekulārie dati

Mutational profile Mutācija: CEBPA, vienkārša, p.Gln311Ter (c.931C>T), heterozigota, H3C3, vienkārša, p.Lys28Met (c.83A>T), heterozigota, NRAS, vienkārša, p.Gly12Ala (c.35G>C), heterozigots, TP53, vienkāršs, c.672+1G>A, homozigots, piezīme = splaisinga donora mutācija

Darbs ar

Culture Medium RPMI 1640, w: 2,0 mM stabils glutamīns, w: 2,0 g/L NaHCO₃ (Cytion izstrādājuma numurs 820700a)

Supplements Papildiniet barotni ar 10 % FBS un 20 ng/ml IL-3 cilvēka rekombinantā.

Dissociation Reagent Neviens

Freeze medium Kā kriokonservēšanas barotni mēs izmantojam pilnvērtīgu augšanas barotni (ieskaitot FBS) + 10 % DMSO, lai nodrošinātu pietiekamu dzīvotspēju pēc atkausēšanas, vai CM-1 (Cytion kataloga numurs 800100), kas ietver optimizētus osmoprotektorus un metaboliskos stabilizatorus, lai uzlabotu atveseļošanos un samazinātu krioinducēto stresu.

MDS-L šūnas | 305826

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Pārliecinieties, ka pēc piegādes flakons paliek dziļi sasaldēts, jo šūnas tiek sūtītas uz sausā ledus, lai pārvadāšanas laikā saglabātu optimālu temperatūru.
2. Pēc saņemšanas vai nu nekavējoties uzglabāt kriovialu temperatūrā, kas zemāka par -150 °C, lai nodrošinātu šūnu integritātes saglabāšanu, vai arī turpināt 3. posmu, ja nepieciešama tūlītēja kultivēšana.
3. Tūlītējas kultivēšanas gadījumā ātri atkausējiet flakonu, iegremdējot to 37°C ūdens vannā ar tīru ūdeni un antibakteriālu līdzekli, viegli maisot 40-60 sekundes, līdz paliek neliels ledus gabaliņš.
4. Visas turpmākās darbības veiciet sterilos apstākļos plūsmas nosūcējā, pirms atvēršanas dezinficējot kriovialu ar 70% etanolu.
5. Uzmanīgi atveriet dezinficēto flakonu un pārnesiet šūnu suspensiju 15 ml centrifūgas mēģenē, kurā ir 8 ml istabas temperatūras barotnes, uzmanīgi samaisot.
6. Centrifugējiet maisījumu ar 300 x g 3 minūtes, lai atdalītu šūnas, un uzmanīgi izmetiet virskārtu, kas satur saldēšanas barotnes atlikumus.
7. Viegli resuspendēt šūnu granulas 10 ml svaigas barotnes. Adhēzijas šūnu gadījumā suspensiju sadalīt divās T25 kolbās; suspensijas kultūrām visu barotni pārnest vienā T25 kolbā, lai veicinātu efektīvu šūnu mijiedarbību un augšanu.
8. Ievērojiet noteiktos subkultūru protokolus, lai nodrošinātu nepārtrauktu šūnu līnijas augšanu un uzturēšanu, tādējādi nodrošinot uzticamus eksperimentu rezultātus.

**Incubation
Atmosphere**

37°C, 5% CO_2 , mitrināta atmosfēra.

Flask Coating

Neviens

**Shipping
Conditions**

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidrums daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

**Storage
Conditions**

Ilgstošai uzglabāšanai flakonus ievietojiet šķidrā slāpekļī ar tvaika fāzi aptuveni -150 līdz -196 °C temperatūrā. Uzglabāšana -80 °C temperatūrā ir pieļaujama tikai kā īss starposms pirms pārvietošanas uz šķidro slāpekli.

MDS-L šūnas | 305826

Kvalitātes kontrole / Ģenētiskais profils / HLA

Sterility

Mikoplazmas piesārņojums tiek izslēgts, izmantojot gan uz PCR balstītus testus, gan uz luminiscenci balstītas mikoplazmas noteikšanas metodes.

Lai pārliecinātos, ka nav baktēriju, sēnīšu vai rauga piesārņojuma, šūnu kultūras katru dienu vizuāli pārbauda.