Product sheet

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 tika iegūta 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 leikēmijas 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 apliecināja 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 pediatriskiem gliomiem, bet reti sastopama hematoloģiskās malignitātēs, tika identificēta MDS-L un atklāts, ka tā inhibē EZH2 mediētu histona metilāciju. Šī epigenētiskā izmaiņa izraisīja plašu H3-K27 metilācijas samazināšanos un bija saistīta ar izmainītu tādu audzēju supresoru gēnu ekspresiju 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 leikēmijā.
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.

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% $_{CO2}$, mitrināta atmosfēra.

Flask Coating

Neviens

Shipping Conditions

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidruma 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 slāpeklī ar tvaika fāzi aptuveni -150 līdz -196 °C temperatūrā. Uzglabāšana -80 °C temperatūrā ir pieļaujama tikai kā īss starpposms pirms pārvietošanas uz šķidro slāpekli.

Kvalitātes kontrole un molekulārā analīze

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.