

MDS-L-cellen | 305826

Algemene informatie

Description

MDS-L is een menselijke myelodysplastisch syndroom (MDS)-afgeleide cellijn die oorspronkelijk is vastgesteld uit de MDS92-celijn, die zelf is afgeleid van het beenmerg van een patiënt met MDS die een del(5q) chromosomale afwijking vertoonde. Terwijl MDS92 een heterogene mix van myeloïde cellen in verschillende stadia van differentiatie bevatte, vertegenwoordigt MDS-L een blastische sublijn met meer uniforme kenmerken die karakteristiek zijn voor onrijpe myeloïde progenitorcellen. MDS-L blijft afhankelijk van interleukine-3 (IL-3) voor proliferatie in vitro, wat overeenkomt met de cytokine-gevoeligheid die wordt waargenomen in primaire MDS-voorlopercellen. De lijn bevat meerdere genetische veranderingen, waaronder homozygote TP53-mutaties en aanvullende verworven mutaties in NRAS en CEBPA. Deze veranderingen weerspiegelen gezamenlijk de klonale evolutie en het potentieel voor leukemische transformatie die kenmerkend zijn voor hoogrisico-MDS.

MDS-L wordt veel gebruikt als model voor onderzoek naar de moleculaire mechanismen die ten grondslag liggen aan MDS-pathogenese, differentiatieblokkade en therapeutische resistentie. Een belangrijke bevinding met behulp van MDS-L was de demonstratie dat geforceerde expressie van granulocytkoloniestimulerende factorreceptor (G-CSFR) via retrovirale transductie granulocytische differentiatie mogelijk maakte bij G-CSF-stimulatie. Dit bleek uit morfologische veranderingen, verhoogde CD11b-expressie en verhoogde nitroblauwtetrazolium (NBT)-reductieactiviteit, wat wijst op terminale granulocytrijping. Deze resultaten brachten het intrinsieke vermogen van MDS-L om te differentiëren aan het licht als de juiste signaalcomponenten worden hersteld, wat inzicht biedt in mogelijke genterapeutische benaderingen die gericht zijn op differentiatiestoornissen bij MDS.

Naast genetische en functionele studies heeft MDS-L een belangrijke rol gespeeld bij het karakteriseren van de rol van histonmodificaties in de progressie van de ziekte. Met name de histon H3-K27M-mutatie, die vaak wordt geassocieerd met pediatrische gliomen maar zeldzaam is bij hematologische maligniteiten, werd geïdentificeerd in MDS-L en bleek EZH2-gemedieerde histonmethylering te remmen. Deze epigenetische verandering leidde tot een wijdverspreide vermindering van H3-K27-methylering en werd in verband gebracht met een veranderde expressie van tumorsuppressorgenen zoals p16. MDS-L-sublijnen met of zonder deze mutatie – afgeleid van differentiële IL-3-kweekomstandigheden – hebben verder onderzoek mogelijk gemaakt naar epigenetische heterogeniteit binnen MDS en de implicaties daarvan voor IL-3-afhankelijke groei en therapeutische respons. Deze unieke eigenschappen maken MDS-L tot een krachtig in vitro- en in vivo-model voor het bestuderen van de moleculaire evolutie en therapeutische targeting van MDS en de transformatie ervan naar acute myeloïde leukemie.

Organism Mens

Tissue Beenmerg

Disease Myelodysplastisch syndroom

Synonyms MDSL

Kenmerken

Age 52 jaar

MDS-L-cellen | 305826

Gender Mannelijk

Ethnicity Japans

Growth properties Ophanging

Regelgevende gegevens

Citation MDS-L (Cytion-catalogusnummer 305826)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_A8QV

Biomoleculaire gegevens

Mutational profile Mutatie: CEBPA, eenvoudig, p.Gln311Ter (c.931C>T), heterozygoot, H3C3, eenvoudig, p.Lys28Met (c.83A>T), heterozygoot, NRAS, eenvoudig, p.Gly12Ala (c.35G>C), heterozygoot, TP53, eenvoudig, c.672+1G>A, homozygoot, opmerking = splice-donormutatie

Omgaan met

Culture Medium RPMI 1640, w: 2,0 mM stabiele Glutamine, w: 2,0 g/L NaHCO₃ (Cytion artikelnummer 820700a)

Supplements Voeg aan het medium 10% FBS en 20 ng/ml IL-3 humaan recombinant toe.

Dissociation Reagent Geen

Freeze medium Als cryoconserveringsmedium gebruiken we volledig groeimedium (inclusief FBS) + 10% DMSO voor voldoende levensvatbaarheid na het ontdooien, of CM-1 (Cytion catalogusnummer 800100), dat geoptimaliseerde osmoprotectanten en metabolische stabilisatoren bevat om het herstel te verbeteren en door cryo geïnduceerde stress te verminderen.

MDS-L-cellen | 305826

Thawing and Culturing Cells

1. Controleer of de flacon bij levering diepgevroren blijft, aangezien de cellen op droog ijs worden verzonden om optimale temperaturen tijdens het transport te behouden.
2. Bewaar het cryoflesje na ontvangst onmiddellijk bij temperaturen lager dan $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ om de integriteit van de cellen te behouden, of ga verder met stap 3 als onmiddellijke kweek vereist is.
3. Voor onmiddellijke kweek: ontdooi de flacon snel door deze onder te dompelen in een waterbad van $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ met schoon water en een antimicrobieel middel, waarbij u 40-60 seconden zachtjes schudt totdat er een klein ijsklontje overblijft.
4. Voer alle volgende stappen uit onder steriele omstandigheden in een stromingskap en desinfecteer de cryoflacon met 70% ethanol voordat deze wordt geopend.
5. Open voorzichtig de gedesinfecteerde flacon en breng de celsuspensie over in een centrifugebuis van 15 ml met 8 ml kweekmedium op kamertemperatuur en meng voorzichtig.
6. Centrifugeer het mengsel gedurende 3 minuten bij $300 \times g$ om de cellen te scheiden en gooi het supernatant met resterend vriesmedium voorzichtig weg.
7. Resuspendeer de celpellet voorzichtig in 10 ml vers kweekmedium. Verdeel voor adherente cellen de suspensie over twee T25-kweekkolven; breng voor suspensiekweken al het medium over in één T25-kweekkolf om effectieve celinteractie en -groei te bevorderen.
8. Houd u aan de vastgestelde subcultuurprotocollen voor continue groei en onderhoud van de cellijn, om betrouwbare experimentele resultaten te garanderen.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , bevochtigde atmosfeer.

Flask Coating

Geen

Shipping Conditions

Gecryopreserveerde cellijnen worden verzonden op droog ijs in gevalideerde, geïsoleerde verpakkingen met voldoende koelmiddel om gedurende het transport ongeveer $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ te handhaven. Inspecteer de verpakking onmiddellijk na ontvangst en breng de flacons onverwijld over naar de juiste opslagplaats.

Storage Conditions

Voor langdurige bewaring plaatst u flesjes in vloeibare stikstof in dampfase bij ongeveer -150 tot $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$. Opslag bij $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ is alleen aanvaardbaar als korte tussenstap vóór overbrenging naar vloeibare stikstof.

Kwaliteitscontrole / Genetisch profiel / HLA

MDS-L-cellen | 305826

Sterility

Mycoplasma-verontreiniging wordt uitgesloten met zowel PCR-gebaseerde testen als op luminescentie gebaseerde mycoplasma-detectiemethoden.

Om er zeker van te zijn dat er geen besmetting is met bacteriën, schimmels of gisten, worden de celculturen dagelijks onderworpen aan visuele inspecties.