

## Komórki MDS-L | 305826

## Informacje ogólne

## Description

MDS-L to linia komórkowa pochodząca z ludzkiego zespołu mielodysplastycznego (MDS), pierwotnie utworzona z linii komórkowej MDS92, która sama pochodziła ze szpiku kostnego pacjenta z MDS wykazującym nieprawidłowość chromosomową del(5q). Podczas gdy MDS92 zawierała heterogenną mieszankę komórek szpikowych w różnych stadiach różnicowania, MDS-L reprezentuje podlinię blastyczną o bardziej jednolitych cechach charakterystycznych dla niedojrzałych komórek progenitorowych szpiku kostnego. MDS-L zachowuje zależność od interleukiny-3 (IL-3) w zakresie proliferacji in vitro, odzwierciedlając wrażliwość na cytokiny obserwowaną w pierwotnych komórkach progenitorowych MDS. Linia ta zawiera wiele zmian genetycznych, w tym homozygotyczne mutacje TP53 i dodatkowe nabyte mutacje w NRAS i CEBPA. Zmiany te łącznie odzwierciedlają ewolucję klonalną i potencjał transformacji białaczkowej typowy dla MDS wysokiego ryzyka.

MDS-L jest szeroko stosowany jako model do badania mechanizmów molekularnych leżących u podstaw patogenezy MDS, blokady różnicowania i oporności na leczenie. Jednym z istotnych odkryć przy użyciu MDS-L było wykazanie, że wymuszona ekspresja receptora czynnika stymulującego kolonie granulocytów (G-CSFR) poprzez transdukcję retrowirusową umożliwiła różnicowanie granulocytów po stymulacji G-CSF. Świadczyły o tym zmiany morfologiczne, zwiększona ekspresja CD11b i zwiększona aktywność redukcyjna nitroblue tetrazolium (NBT) — wskazujące na końcowe dojrzewanie granulocytów. Wyniki te ujawniły wewnętrzną zdolność MDS-L do różnicowania się w przypadku przywrócenia odpowiednich składników sygnałowych, dając wgląd w potencjalne podejścia do terapii genowej ukierunkowane na defekty różnicowania w MDS.

Oprócz badań genetycznych i funkcjonalnych, MDS-L odegrało kluczową rolę w scharakteryzowaniu roli modyfikacji histonów w progresji choroby. Warto zauważyć, że mutacja histonu H3-K27M, powszechnie związana z glejakami u dzieci, ale rzadko występująca w nowotworach hematologicznych, została zidentyfikowana w MDS-L i stwierdzono, że hamuje metylację histonów za pośrednictwem EZH2. Ta zmiana epigenetyczna doprowadziła do powszechnego zmniejszenia metylacji H3-K27 i była powiązana ze zmienioną ekspresją genów supresorowych nowotworów, takich jak p16. Podlinie MDS-L z tą mutacją lub bez niej — uzyskane w wyniku zróżnicowanych warunków hodowli IL-3 — umożliwiły dalsze badanie heterogeniczności epigenetycznej w MDS i jej wpływu na wzrost zależny od IL-3 oraz odpowiedź terapeutyczną. Te wyjątkowe właściwości sprawiają, że MDS-L jest potężnym modelem in vitro i in vivo do badania ewolucji molekularnej i celów terapeutycznych MDS oraz jego transformacji w ostrą białaczkę szpikową.

**Organism** Człowiek

**Tissue** Szpik kostny

**Disease** Zespół mielodysplastyczny

**Synonyms** MDSL

## Charakterystyka

**Age** 52 lata

**Gender** Męczyzna

## Komórki MDS-L | 305826

**Ethnicity** Japoński**Growth properties** Zawieszenie

## Dane regulacyjne

**Citation** MDS-L (numer katalogowy Cytion 305826)**Biosafety level** 1**NCBI\_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL\_A8QV

## Dane biomolekularne

**Mutational profile** Mutacja: CEBPA, prosta, p.Gln311Ter (c.931C>T), heterozygotyczna, H3C3, prosta, p.Lys28Met (c.83A>T), heterozygotyczna, NRAS, prosta, p.Gly12Ala (c.35G>C), heterozygotyczna, TP53, prosta, c.672+1G>A, homozygotyczna, uwaga = mutacja donorowa splicingu

## Obsługa

**Culture Medium** RPMI 1640, w: 2,0 mM stabilnej glutaminy, w: 2,0 g/L NaHCO<sub>3</sub> (numer artykułu Cytion 820700a)**Supplements** Uzupełnij pożywkę 10% FBS i 20 ng/ml ludzkiego rekombinowanego IL-3.**Dissociation Reagent** Brak**Freeze medium** Jako pożywki do kriokonserwacji używamy kompletnej pożywki wzrostowej (w tym FBS) + 10% DMSO w celu zapewnienia odpowiedniej żywotności po rozmrożeniu lub CM-1 (numer katalogowy Cytion 800100), która zawiera zoptymalizowane osmoprotektanty i stabilizatory metaboliczne w celu zwiększenia regeneracji i zmniejszenia stresu wywołanego kriokonserwacją.

**Komórki MDS-L | 305826****Thawing and  
Culturing Cells**

1. Upewnij się, że fiolka pozostaje głęboko zamrożona w momencie dostawy, ponieważ komórki są wysyłane w suchym lodzie, aby utrzymać optymalną temperaturę podczas transportu.
2. Po otrzymaniu należy natychmiast przechowywać fiolkę w temperaturze poniżej  $-150^{\circ}\text{C}$ , aby zapewnić zachowanie integralności komórek, lub przejść do kroku 3, jeśli wymagana jest natychmiastowa hodowla.
3. W przypadku natychmiastowej hodowli należy szybko rozmrozić fiolkę, zanurzając ją w łaźni wodnej o temperaturze  $37^{\circ}\text{C}$  z czystą wodą i środkiem przeciwdrobnoustrojowym, delikatnie mieszając przez 40-60 sekund, aż pozostanie niewielka grudka lodu.
4. Wykonaj wszystkie kolejne kroki w sterylnych warunkach w kapturze przepływowej, dezynfekując fiolkę 70% etanolem przed otwarciem.
5. Ostrożnie otworzyć zdezynfekowaną fiolkę i przenieść zawiesinę komórek do 15 ml probówki wirówkowej zawierającej 8 ml podłoża hodowlanego o temperaturze pokojowej, delikatnie mieszając.
6. Wirować mieszaninę z prędkością  $300 \times g$  przez 3 minuty w celu oddzielenia komórek i ostrożnie odrzucić supernatant zawierający pozostałości pożywki do zamrażania.
7. Delikatnie ponownie zawiesić osad komórek w 10 ml świeżego podłoża hodowlanego. W przypadku komórek przylegających, rozdzielić zawiesinę pomiędzy dwie kolby hodowlane T25; w przypadku hodowli zawieszonych, przenieść całą pożywkę do jednej kolby T25 w celu promowania skutecznej interakcji i wzrostu komórek.
8. Przestrzegaj ustalonych protokołów podhodowli w celu ciągłego wzrostu i utrzymania linii komórkowej, zapewniając wiarygodne wyniki eksperymentów.

**Incubation  
Atmosphere**

$37^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , nawilżona atmosfera.

**Flask Coating**

Brak

**Shipping  
Conditions**

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około  $-78^{\circ}\text{C}$  przez czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

## Komórki MDS-L | 305826

### Storage Conditions

W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiołki w ciekłym azocie w fazie lotnej w temperaturze od -150 do -196 °C. Przechowywanie w temperaturze -80 °C jest dopuszczalne tylko jako krótki etap przejściowy przed przeniesieniem do ciekłego azotu.

## Kontrola jakości / Profil genetyczny / HLA

### Sterility

Zanieczyszczenie mykoplazmą jest wykluczane przy użyciu zarówno testów opartych na PCR, jak i metod wykrywania mykoplazmy opartych na luminescencji.

Aby upewnić się, że nie ma zanieczyszczenia bakteriami, grzybami lub drożdżami, hodowle komórkowe są poddawane codziennym kontrolom wizualnym.