Product sheet

MDS-L-celler | 305826

Allmän information

Description	MDS-L är en cellinje som härstammar från myelodysplastiskt syndrom (MDS) hos människor och som ursprungligen etablerades från cellinjen MDS92, som i sin tur härstammar från benmärgen hos en patient med MDS som uppvisade en kromosomavvikelse av typen del(5q). Medan MDS92 innehöll en heterogen blandning av myeloida celler i olika differentieringsstadier, representerar MDS-L en blastisk sublinje med mer enhetliga egenskaper som är karakteristiska för omogna myeloida progenitorceller. MDS-L behåller interleukin-3 (IL-3)-beroendet för proliferation in vitro, vilket speglar den cytokinkänslighet som ses i primära MDS-progenitorceller. Linjen har flera genetiska förändringar, inklusive homozygota TP53-mutationer och ytterligare förvärvade mutationer i NRAS och CEBPA. Dessa förändringar återspeglar tillsammans den klonala utvecklingen och den leukemiska transformationspotential som är typisk för högrisk-MDS. MDS-L har använts i stor utsträckning som modell för att undersöka de molekylära mekanismer som ligger till grund för MDS-patogenes, differentieringsblockering och terapeutisk resistens. En viktig upptäckt med hjälp av MDS-L var att påtvingad expression av granulocytkolonistimulerande faktorreceptor (G-CSFR) via retroviral transduktion möjliggjorde granulocytisk differentiering vid G-CSF-stimulering. Detta bevisades av morfologiska förändringar, ökad CD11b-expression och förstärkt nitroblått tetrazolium (NBT)-reduktionsaktivitet, vilket indikerar terminal granulocytmognad. Dessa resultat avslöjade MDS-L:s inneboende förmåga att differentiera sig om lämpliga signaleringskomponenter återställs, vilket ger insikter om potentiella genterapimetoder som riktar sig mot differentieringsdefekter i MDS. Förutom genetiska och funktionella studier har MDS-L varit avgörande för att karakterisera histonmodifieringarnas roll i sjukdomsprogressionen. Noterbart är att histon H3-K27M-mutationen, som vanligtvis förknippas med pediatriska gliom men är sällsynt vid hematologiska maligniteter, identifierades i MDS-L och visade sig hämma EZH2-medierad histonmetylering. Denna epigenetiska förändring ledde till en omfattande minskning av H3-K27-metylering och var kopplad till förändrad expression av tumörsuppressorgener såsom p16. MDS-L-sublinjer med eller utan denna mutation – som härrör från differentierade IL-3-odlingsförhållanden – har ytterligare möjliggjort utforskning av epigenetisk heterogenitet inom MDS och dess implikationer för IL-3-beroende tillväxt och terapeutiskt svar. Dessa unika egenskaper gör MDS-L till en kraftfull in vitro- och in vivo-modell för att studera den molekylära utvecklingen och terapeutiska inriktningen av MDS och dess omvandling till akut myeloid leukemi.
Organism	Människan
Tissue	Benmärg
Disease	Myelodysplastiskt syndrom
Synonyms	MDSL

Egenskaper

Age	52 år
Gender	Man

MDS-L-celler | 305826

Ethnicity	Japanska
Growth properties	Avstängning

Lagstadgade uppgifter

Citation	MDS-L (Cytion-katalognummer 305826)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_A8QV

Biomolekylära data

Mutational profile	Mutation: CEBPA, enkel, p.Gln311Ter (c.931C>T), heterozygot, H3C3, enkel, p.Lys28Met (c.83A>T), heterozygot, NRAS, enkel, p.Gly12Ala (c.35G>C), heterozygot, TP53, enkel, c.672+1G>A, homozygot, Anmärkning=Splice-donatormutation

Hantering

Culture Medium	RPMI 1640, med: 2,0 mM stabilt glutamin, med: 2,0 g/L NaHCO3 (Cytion artikelnummer 820700a)
Supplements	Tillsätt 10 % FBS och 20 ng/ml IL-3 humant rekombinant till mediet.
Dissociation Reagent	Ingen
Freeze medium	Som kryokonserveringsmedium använder vi komplett tillväxtmedium (inklusive FBS) + 10% DMSO för adekvat viabilitet efter upptining, eller CM-1 (Cytion katalognummer 800100), som innehåller optimerade osmoprotektanter och metaboliska stabilisatorer för att förbättra återhämtningen och minska kryoinducerad stress.

MDS-L-celler | 305826

Thawing and Culturing Cells	1. Bekräfta att flaskan är djupfryst vid leverans, eftersom cellerna skickas på torris för att bibehålla optimala temperaturer under transporten. 2. Vid mottagandet ska du antingen förvara kryovialen omedelbart vid temperaturer under -150 °C för att säkerställa att cellernas integritet bevaras, eller gå vidare till steg 3 om omedelbar odling krävs. 3. Vid omedelbar odling ska injektionsflaskan snabbt tinas genom att den sänks ned i ett 37 °C vattenbad med rent vatten och ett antimikrobiellt medel och omrörs försiktigt i 40-60 sekunder tills en liten isklump återstår. 4. Utför alla efterföljande steg under sterila förhållanden i en flödeshuv och desinficera kryovialerna med 70 % etanol innan de öppnas. 5. Öppna försiktigt den desinficerade flaskan och överför cellsuspensionen till ett 15 ml centrifugrör som innehåller 8 ml rumstempererat odlingsmedium och blanda försiktigt. 6. Centrifugera blandningen vid 300 x g i 3 minuter för att separera cellerna och kassera försiktigt supernatanten som innehåller resterande frysmedium. 7. Resuspendera försiktigt cellpelleten i 10 ml färskt odlingsmedium. För adherenta celler, fördela suspensionen mellan två T25-kulturkolvar; för suspensionskulturer, överför allt medium till en T25-kolv för att främja effektiv cellinteraktion och tillväxt. 8. Följ fastställda subkulturprotokoll för fortsatt tillväxt och underhåll av cellinjen, vilket säkerställer tillförlitliga experimentella resultat.
Incubation Atmosphere	37°C, 5% $_{CO2}$, befuktad atmosfär.
Flask Coating	Ingen
Shipping Conditions	Kryopreserverade cellinjer skickas på torris i validerade, isolerade förpackningar med tillräckligt med kylmedel för att hålla cirka -78 °C under hela transporten. Vid mottagandet ska behållaren omedelbart inspekteras och flaskorna utan dröjsmål överföras till lämplig förvaring.
Storage Conditions	För långtidsförvaring, placera flaskorna i flytande kväve i ångfas vid ca -150 till -196 °C. Förvaring vid -80 °C är acceptabelt endast som ett kort mellanliggande steg innan överföring till flytande kväve.

Kvalitetskontroll och molekylär analys

MDS-L-celler | 305826

Sterility	Mykoplasmakontaminering utesluts med hjälp av både PCR-baserade analyser och luminiscensbaserade metoder för mykoplasmadiagnostik. För att säkerställa att det inte finns någon kontaminering av bakterier, svamp eller jäst utsätts cellkulturerna för dagliga visuella inspektioner.