

Bunky MDS-L | 305826

Všeobecné informácie

Description

MDS-L je ľudská bunková línia odvodená od myelodysplastického syndrómu (MDS), pôvodne vytvorená z bunkovej línie MDS92, ktorá bola odvodená z kostnej drene pacienta s MDS vykazujúcim chromozómovú abnormalitu del(5q). Zatiaľ čo MDS92 obsahovala heterogénnu zmes myeloidných buniek v rôznych štádiách diferenciácie, MDS-L predstavuje blastickú podlíniu s jednotnejšími charakteristikami nezrelých myeloidných progenitorových buniek. MDS-L si zachováva závislosť od interleukínu-3 (IL-3) pre proliferáciu in vitro, čo odrzkadľuje citlivosť na cytokíny pozorovanú v primárnych progenitorových bunkách MDS. Línia obsahuje viacero genetických zmien, vrátane homozygotných mutácií TP53 a ďalších získaných mutácií v NRAS a CEBPA. Tieto zmeny spoločne odrzkadľujú klonálnu evolúciu a potenciál leukemickej transformácie typický pre MDS s vysokým rizikom.

MDS-L sa široko používa ako model na skúmanie molekulárnych mechanizmov, ktoré sú základom patogenézy MDS, diferenciácie a terapeutickú rezistencie. Jedným z významných zistení pri použití MDS-L bolo preukázanie, že nútená expresia receptora granulocytového kolóniestimulujúceho faktoru (G-CSFR) prostredníctvom retrovirálnej transdukcie umožnila granulocytovú diferenciáciu po stimulácii G-CSF. To bolo dokázané morfológickými zmenami, zvýšenou expresiou CD11b a zvýšenou redukčnou aktivitou nitroblue tetrazolium (NBT), čo svedčí o terminálnom dozrievaní granulocytov. Tieto výsledky odhalili vnútornú schopnosť MDS-L diferencovať sa, ak sú obnovené vhodné signálne komponenty, čo poskytuje pohľad na potenciálne prístupy génovej terapie zamerané na defekty diferenciácie v MDS.

Okrem genetických a funkčných štúdií bol MDS-L dôležitý pri charakterizovaní úlohy modifikácií histónov v progresi ochorenia. Zaujímavé je, že mutácia histónu H3-K27M, ktorá sa bežne spája s pediatrickými gliómami, ale je zriedkavá v hematologických malignitách, bola identifikovaná v MDS-L a zistilo sa, že inhibuje metyláciu histónov sprostredkovanú EZH2. Táto epigenetická zmena viedla k rozsiahlemu zníženiu metylácie H3-K27 a bola spojená so zmenenou expresiou tumor supresorových génov, ako je p16. Podlínie MDS-L s touto mutáciou alebo bez nej, získané prostredníctvom diferencovaných kultivačných podmienok IL-3, ďalej umožnili skúmanie epigenetickej heterogenity v rámci MDS a jej dôsledkov na rast závislý od IL-3 a terapeutickú odpoveď. Tieto jedinečné vlastnosti robia z MDS-L výkonný in vitro a in vivo model na štúdium molekulárnej evolúcie a terapeutického zacielenia MDS a jeho transformácie na akútnu myeloidnú leukémiu.

Organism Ľudské

Tissue Kostná dreň

Disease Myelodysplastický syndróm

Synonyms MDSL

Charakteristika

Age 52 rokov

Gender Muži

Bunky MDS-L | 305826**Ethnicity** Japonský**Growth properties** Pozastavenie**Regulačné údaje****Citation** MDS-L (číslo katalógu Cytion 305826)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_A8QV**Biomolekulárne údaje****Mutational profile** Mutácia: CEBPA, jednoduchá, p.Gln311Ter (c.931C>T), heterozygotná, H3C3, jednoduchá, p.Lys28Met (c.83A>T), heterozygotná, NRAS, jednoduchá, p.Gly12Ala (c.35G>C), heterozygotná, TP53, jednoduchá, c.672+1G>A, homozygotná, Poznámka=mutácia darcu splice**Spracovanie****Culture Medium** RPMI 1640, w: 2,0 mM stabilný glutamín, w: 2,0 g/L NaHCO₃ (číslo výrobu Cytion 820700a)**Supplements** Doplnite médium 10 % FBS a 20 ng/ml IL-3 ľudského rekombinantného**Dissociation Reagent** Žiadne**Freeze medium** Ako kryokonzervačné médium používame kompletne rastové médium (vrátane FBS) + 10 % DMSO na zabezpečenie primeranej životaschopnosti po rozmrazení alebo CM-1 (katalógové číslo 800100 spoločnosti Cytion), ktoré obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory na zlepšenie regenerácie a zníženie stresu spôsobeného kryom.

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

1. Overte si, že injekčná liekovka zostane pri doručení hlboko zmrazená, pretože bunky sa prepravujú na suchom ľade, aby sa počas prepravy udržala optimálna teplota.
2. Po prijatí buď okamžite uskladnite kryovialku pri teplote nižšej ako -150 °C, aby ste zabezpečili zachovanie bunkovej integrity, alebo prejdite na krok 3, ak je potrebná okamžitá kultivácia.
3. V prípade okamžitej kultivácie injekčnú liekovku rýchlo rozmrazte ponorením do vodného kúpeľa s teplotou 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálnym prostriedkom, pričom ju jemne miešajte 40 - 60 sekúnd, kým nezostane malý ľadový chumáč.
4. Všetky ďalšie kroky vykonajte v sterilných podmienkach v prietokovom digestore a pred otvorením kryovialku dezinfikujte 70 % etanolom.
5. Opatrne otvorte dezinfikovanú fľaštičku a preneste bunkovú suspenziu do 15 ml centrifugačnej skúmavky obsahujúcej 8 ml kultivačného média s izbovou teplotou a jemne premiešajte.
6. Zmes odstreďujte pri 300 x g počas 3 minút, aby sa bunky oddelili, a opatrne zlikvidujte supernatant obsahujúci zvyšky zmrazovacieho média.
7. Pelet buniek jemne resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačného média. V prípade adherentných buniek rozdeľte suspenziu medzi dve kultivačné banky T25; v prípade suspenzných kultúr preneste všetko médium do jednej banky T25, aby ste podporili účinnú interakciu a rast buniek.
8. Dodržiavajte zavedené subkultivačné protokoly na nepretržitý rast a udržiavanie bunkovej línie, čím sa zabezpečia spoľahlivé výsledky experimentov.

**Incubation
Atmosphere**

37 °C, 5 % CO_2 , zvlhčená atmosféra.

Flask Coating

Žiadne

**Shipping
Conditions**

Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne -78 °C počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

**Storage
Conditions**

Na dlhodobé uchovávanie umiestnite injekčné liekovky do kvapalnej fázy dusíka v pare pri teplote približne -150 až -196 °C. Skladovanie pri teplote -80 °C je prijateľné len ako krátky prechodný krok pred presunom do tekutého dusíka.

Bunky MDS-L | 305826

Kontrola kvality / Genetický profil / HLA

Sterility

Kontaminácia mykoplazmami sa vylučuje pomocou testov založených na PCR a metód detekcie mykoplazmiem založených na luminiscencii.

Aby sa zabezpečilo, že nedošlo ku kontaminácii baktériami, hubami alebo kvasinkami, bunkové kultúry sa denne vizuálne kontrolujú.