Product sheet

Клітини MDS-L | 305826

Загальна інформація

Description	MDS-L — це клітинна лінія, отримана з мієлодиспластичного синдрому (МДС) людини, яка була спочатку створена з клітинної лінії MDS92, яка, у свою чергу, була отримана з кісткового мозку пацієнта з МДС, що мав хромосомну аномалію del(5q). У той час як MDS92 містила гетерогенну суміш мієлоїдних клітин на різних стадіях диференціації, MDS-L представляє бластну сублінію з більш однорідними характеристиками, властивими незрілим мієлоїдним прогеніторним клітинам. MDS-L зберігає залежність від інтерлейкіну-3 (IL-3) для проліферації in vitro, що відображає чутливість до цитокінів, яка спостерігається в первинних клітинах-попередниках MDS. Лінія містить множинні генетичні зміни, включаючи гомозиготні мутації TP53 та додаткові набуті мутації в NRAS і CEBPA. Ці зміни в сукупності відображають клональну еволюцію та потенціал лейкемічної трансформації, типові для MDS високого ризику. MDS-L широко використовується як модель для дослідження молекулярних механізмів, що лежать в основі патогенезу МДС, блокування диференціації та терапевтичної резистентності. Одним із значущих відкриттів за допомогою MDS-L було доведення того, що примусова експресія рецептора гранулоцитарного колонієстимулюючого фактора (G-CSFR) за допомогою ретровірусної трансдукції уможливила гранулоцитарну диференціацію після стимуляції G-CSF. Це було підтверджено морфологічними змінами, підвищеною експресією CD11b та посиленою активністю відновлення нітросинього тетразолію (NBT), що свідчить про термінальне дозрівання гранулоцитів. Ці результати виявили внутрішню здатність MDS-L до диференціації при відновленні відповідних сигнальних компонентів, що дає уявлення про потенційні підходи до генної терапії, спрямовані на усунення дефектів диференціації при МДС. На додаток до генетичних та функціональних досліджень, MDS-L відіграв важливу роль у характеристиці ролі модифікацій гістонів у прогресуванні захворювання. Зокрема, мутація гістону H3-K27M, яка зазвичай асоціюється з дитячими гліомами, але рідко зустрічається при гематологічних злоякісних новоутвореннях, була виявлена в MDS-L і, як було встановлено, інгібує метилювання гістонів, опосередковане EZH2. Ця епігенетична зміна призвела до значного зниження метилювання H3-K27 і була пов'язана зі зміною експресії генів-супресорів пухлин, таких як p16. Сублінії MDS-L з цією мутацією або без неї, отримані за допомогою диференційованих умов культивування IL-3, дозволили додатково дослідити епігенетичну гетерогенність в рамках MDS та її вплив на IL-3-залежний ріст і терапевтичну відповідь. Ці унікальні властивості роблять MDS-L потужною in vitro та in vivo моделлю для вивчення молекулярної еволюції та терапевтичного націлювання MDS та його трансформації в гостру мієлоїдну лейкемію.
Organism	Людина
Tissue	Кістковий мозок
Disease	Мієлодиспластичний синдром
Synonyms	MDSL

Характеристики

Клітини MDS-L | 305826

Age	52 роки
Gender	Чоловік
Ethnicity	Японський
Growth properties	Підвіска

Нормативні дані

Citation	MDS-L (номер у каталозі Cytion 305826)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_A8QV

Біомолекулярні дані

Mutational profile	Мутація: CEBPA, проста, p.Gln311Ter (c.931C>T), гетерозиготна, H3C3, проста, p.Lys28Met (c.83A>T), гетерозиготна, NRAS, проста, p.Gly12Ala (c.35G>C), гетерозиготний, TP53, простий, c.672+1G>A, гомозиготний, примітка = мутація донора сплайсингу

Обробка

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 мМ стабільний глютамін, w: 2,0 г/л NaHCO3 (номер за каталожним номером 820700a)
Supplements	Додайте до середовища 10% FBS і 20 нг/мл рекомбінантного IL-3 людини.
Dissociation Reagent	Ні
Freeze medium	Як середовище кріоконсервування ми використовуємо повне живильне середовище (включаючи FBS) + 10% ДМСО для адекватної життєздатності після відтавання або CM-1 (номер за каталогом Cytion 800100), до складу якого входять оптимізовані осмопротектори та метаболічні стабілізатори для прискорення відновлення та зменшення кріоіндукованого стресу.

Клітини MDS-L | 305826

Thawing and Culturing Cells

1. Переконайтеся, що віал залишається глибоко замороженим після доставки, оскільки клітини транспортуються на сухому льоду для підтримання оптимальної температури під час транспортування.
2. Після отримання негайно зберігайте кріовіал при температурі нижче -150°C, щоб забезпечити збереження клітинної цілісності, або перейдіть до кроку 3, якщо потрібне негайне культивування.
3. Для негайного культивування швидко розморозьте віал, занурivши його у водяну баню з чистою водою і антимікробним засобом при температурі 37°C, обережно перемішуючи протягом 40-60 секунд, поки не залишиться невелика крижана грудка.
4. Всі наступні кроки виконуйте в стерильних умовах у проточній витяжній шафі, дезінфікуючи кріовіал 70% етанолом перед відкриттям.
5. Обережно відкрийте продезінфікований флакон і перенесіть клітинну суспензію в 15 мл центрифужну пробірку, що містить 8 мл культурального середовища кімнатної температури, обережно перемішуючи.
6. Відцентрифугуйте суміш при 300 x g протягом 3 хвилин, щоб відокремити клітини, і обережно викиньте надосадову рідину, що містить залишки заморожувального середовища.
7. Обережно ресуспендуйте осад клітин у 10 мл свіжого культурального середовища. Для адгезивних клітин розділіть суспензію між двома культуральними колбами T25; для суспензійних культур перенесіть все середовище в одну колбу T25, щоб сприяти ефективній взаємодії та росту клітин.
8. Дотримуйтесь встановлених протоколів субкультивування для продовження росту і підтримання клітинної лінії, забезпечуючи надійні результати експерименту.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% $_{CO2}$, волога атмосфера.

Flask Coating

Ні

Shipping Conditions

Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевіреній ізольованій упаковці з достатньою кількістю холодоагенту для підтримання температури приблизно -78 °C під час транспортування. При отриманні негайно огляньте контейнер і без зволікань перемістіть флакони у відповідне місце зберігання.

Storage Conditions	Для тривалого зберігання помістіть флакони в парофазний рідкий азот при температурі від -150 до -196 °C. Зберігання при -80 °C допустиме лише як короткий проміжний етап перед перенесенням у рідкий азот.

Контроль якості та молекулярний аналіз

Sterility	Зараження мікоплазмою виключається за допомогою аналізів на основі ПЛР та люмінесцентних методів виявлення мікоплазми. Щоб переконатися у відсутності бактеріального, грибкового або дріжджового забруднення, клітинні культури піддаються щоденному візуальному контролю.