Product sheet

Células MDS-L | 305826

Informações gerais

Description	A MDS-L é uma linhagem celular derivada da síndrome mielodisplásica (MDS) humana, originalmente estabelecida a partir da linhagem celular MDS92, que, por sua vez, foi derivada da medula óssea de um paciente com MDS que apresentava uma anomalia cromossômica do tipo del(5q). Enquanto a MDS92 continha uma mistura heterogênea de células mieloides em diferentes estágios de diferenciação, a MDS-L representa uma sublinha blástica com características mais uniformes, típicas de células progenitoras mieloides imaturas. A MDS-L mantém a dependência da interleucina-3 (IL-3) para proliferação in vitro, refletindo a sensibilidade às citocinas observada nas células progenitoras primárias da SMD. A linhagem abriga múltiplas alterações genéticas, incluindo mutações homozigotas no TP53 e mutações adquiridas adicionais nos genes NRAS e CEBPA. Essas alterações, coletivamente, refletem a evolução clonal e o potencial de transformação leucêmica típicos da SMD de alto risco. A MDS-L tem sido amplamente utilizada como modelo para investigar os mecanismos moleculares subjacentes à patogênese da MDS, ao bloqueio da diferenciação e à resistência terapêutica. Uma descoberta significativa utilizando a MDS-L foi a demonstração de que a expressão forçada do receptor do fator estimulador de colônias de granulócitos (G-CSFR) por meio de transdução retroviral possibilitou a diferenciação granulocítica após estimulação com G-CSF. Isso foi evidenciado por alterações morfológicas, aumento da expressão de CD11b e aumento da atividade de redução do nitroazul de tetrazólio (NBT) — indicativos da maturação terminal dos granulócitos. Esses resultados revelaram a capacidade intrínseca da MDS-L de se diferenciar caso os componentes de sinalização apropriados sejam restaurados, oferecendo insights sobre possíveis abordagens de terapia gênica direcionadas aos defeitos de diferenciação na MDS. Além de estudos genéticos e funcionais, a MDS-L tem sido fundamental para caracterizar o papel das modificações de histonas na progressão da doença. Notavelmente, a mutação da histona H3-K27M, comumente associada a gliomas pediátricos, mas rara em neoplasias hematológicas, foi identificada na MDS-L e verificou-se que inibe a metilação de histonas mediada por EZH2. Essa alteração epigenética levou a uma redução generalizada na metilação de H3-K27 e foi associada à alteração na expressão de genes supressores de tumor, como o p16. Sublinhagens de MDS-L com ou sem essa mutação — derivadas de condições diferenciais de cultura com IL-3 — permitiram ainda a exploração da heterogeneidade epigenética dentro da MDS e suas implicações para o crescimento dependente de IL-3 e a resposta terapêutica. Essas propriedades únicas tornam a MDS-L um poderoso modelo in vitro e in vivo para o estudo da evolução molecular e do direcionamento terapêutico da MDS e de sua transformação em leucemia mieloide aguda.
Organism	Humano
Tissue	Medula óssea
Disease	Síndrome mielodisplásica
Synonyms	MDSL

Características

Age	52 anos

Células MDS-L | 305826

Gender	Masculino
Ethnicity	Japonês
Growth properties	Suspensão

Dados regulatórios

Citation	MDS-L (número de catálogo da Cytion 305826)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_A8QV

Dados biomoleculares

Mutational profile	Mutação: CEBPA, Simples, p.Gln311Ter (c.931C>T), Heterozigótica, H3C3, Simples, p.Lys28Met (c.83A>T), Heterozigótica, NRAS, Simples, p.Gly12Ala (c.35G>C), heterozigótica, TP53, simples, c.672+1G>A, homozigótica, Observação = mutação doadora de splicing

Manuseio

Culture Medium	RPMI 1640, com 2,0 mM de glutamina estável e 2,0 g/L de $NaHCO_3$ (número de artigo da Cytion: 820700a)
Supplements	Adicione ao meio 10% de FBS e 20 ng/ml de IL-3 recombinante humana
Dissociation Reagent	Nenhum
Freeze medium	Como meio de criopreservação, utilizamos meio de crescimento completo (incluindo FBS) + 10% de DMSO para garantir viabilidade adequada após o descongelamento, ou CM-1 (número de catálogo da Cytion 800100), que inclui osmoprotetores e estabilizadores metabólicos otimizados para melhorar a recuperação e reduzir o estresse induzido pela criopreservação.

Células MDS-L | 305826

Thawing and Culturing Cells

1. Verifique se o frasco permanece profundamente congelado no momento da entrega, pois as células são enviadas em gelo seco para manter as temperaturas ideais durante o transporte.
2. Após o recebimento, armazene o criovial imediatamente a temperaturas abaixo de -150 °C para garantir a preservação da integridade celular ou prossiga para a etapa 3, caso seja necessária a cultura imediata.
3. Para cultura imediata, descongele rapidamente o frasco imergindo-o em um banho-maria a 37 °C com água limpa e um agente antimicrobiano, agitando suavemente por 40 a 60 segundos até que reste apenas um pequeno pedaço de gelo.
4. Realize todas as etapas subsequentes em condições estéreis em uma cabine de fluxo, desinfetando o criovial com etanol a 70% antes de abri-lo.
5. Abra cuidadosamente o frasco desinfetado e transfira a suspensão celular para um tubo de centrífuga de 15 ml contendo 8 ml de meio de cultura à temperatura ambiente, misturando delicadamente.
6. Centrifugue a mistura a 300 x g por 3 minutos para separar as células e descarte cuidadosamente o sobrenadante contendo o meio de congelamento residual.
7. Ressuspender suavemente o sedimento celular em 10 ml de meio de cultura fresco. Para células aderentes, dividir a suspensão entre dois frascos de cultura T25; para culturas em suspensão, transferir todo o meio para um frasco T25 a fim de promover a interação e o crescimento celular eficazes.
8. Siga os protocolos de subcultura estabelecidos para o crescimento contínuo e a manutenção da linhagem celular, garantindo resultados experimentais confiáveis.

Incubation Atmosphere

37 °C, 5% de CO_2, atmosfera umidificada.

Shipping Conditions

As linhagens celulares criopreservadas são enviadas em gelo seco, em embalagens isoladas e validadas, com refrigerante suficiente para manter a temperatura em aproximadamente −78 °C durante todo o transporte. Ao receber a remessa, inspecione o recipiente imediatamente e transfira os frascos sem demora para o local de armazenamento adequado.

Storage Conditions

Para preservação a longo prazo, coloque os frascos em nitrogênio líquido em fase de vapor a uma temperatura entre aproximadamente −150 e −196 °C. O armazenamento a −80 °C é aceitável apenas como uma etapa intermediária de curta duração antes da transferência para o nitrogênio líquido.

Controle de Qualidade e Análise Molecular

Células MDS-L | 305826

Sterility

A contaminação por micoplasma é descartada por meio de ensaios baseados em PCR e de métodos de detecção de micoplasma baseados em luminescência.

Para garantir que não haja contaminação por bactérias, fungos ou leveduras, as culturas celulares são submetidas a inspeções visuais diárias.