

Buňky MOLT-4 | 300115

Obecné informace

Description

MOLT-4 je T-lymfoblastová buněčná linie získaná z periferní krve 19letého pacienta s akutní lymfoblastickou leukémií (ALL) v relapsu v roce 1971. Jedná se o sesterskou buněčnou linii MOLT-3, přičemž MOLT-4 vykazuje neobvyklou přestavbu genu pro gama řetězec T-buněčného antigenního receptoru (T-gamma). Buňky MOLT-4 mají dobu zdvojení přibližně 30 hodin, rostou v suspenzi a jsou tumorigenní u neošetřených nahých myší, u myší ošetřených antilymfocytárním sérem a u myší ozářených rentgenem.

Buňky MOLT-4 mají hypertetraploidní počet chromozomů s modálním počtem chromozomů 95, který se vyskytuje u 24 % buněk, ale vykazují stabilní a opakující se strukturální abnormality chromozomů a delší telomery. MOLT-4 exprimuje řadu T buněčných markerů včetně CD1, CD2, CD3A, CD3B, CD3C, CD4, CD5, CD6 a CD7. Rovněž exprimují vysoké hladiny terminální deoxynukleotidyltransferázy (TdT).

Buněčná linie MOLT-4 neprodukuje imunoglobulin ani virus Epstein-Barrové. Pacient, od něhož byly buňky odvozeny, podstoupil předchozí chemoterapii více léky. V kodonu 248 genu p53 je mutace G -> A a gen P53 není exprimován. Linie byla původně kontaminována mykoplazmaty, ale od té doby byla vyléčena antibiotiky.

Organism Člověk

Tissue Periferní krev

Disease Akutní lymfoblastická leukémie T u dospělých

Synonyms Molt-4, MOLT 4, Molt 4, MOLT.4, MOLT4, Molt4, GM02219, GM02219C, GM2219C, GM02219D

Charakteristika

Age 19 let

Gender Muži

Ethnicity Kavkazský

Morphology Kulaté buňky

Cell type T lymfocyty

Growth properties Zavěšení

Regulační údaje

Buňky MOLT-4 | 300115

Citation MOLT-4 (katalogové číslo Cytion 300115)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_0013

Biomolekulární data

Protein expression P53 pozitivní**Antigen expression** CD1 (49 %), CD2 (35 %), CD3 A (26 %) B (33 %) C (34 %), CD4 (55 %), CD5 (72 %), CD6 (22 %), CD7 (77 %)**Viruses** Buňky neprodukují imunoglobulin ani virus Epsteina-Barrové (Minowada, 1972).**Products** Vznikají vysoké hladiny terminální deoxynukleotidyltransferázy (TdT)**Mutational profile** G -> A mutace v kodonu 248 genu p53, P53 není exprimován (Rodrigues, 1990).**Karyotype** Hypertetraploid. Modální číslo: 96. Dva chromozomy x a dva chromozomy Y.

Zpracování

Culture Medium RPMI 1640, w: 2,0 mM stabilní glutamin, w: 2,0 g/l NaHCO₃ (číslo výrobku Cytion 820700a)**Supplements** Doplňte médium o 10% FBS**Subculturing** Kultury udržujte pravidelným přidáváním nebo výměnou média. Zahajte kultury s hustotou 5×10^5 buněk/ml a pro optimální růst udržujte koncentraci buněk v rozmezí 3×10^5 až 1×10^6 buněk/ml.**Seeding density** 1×10^5 buněk/cm²**Fluid renewal** 2 až 3krát týdně

Buňky MOLT-4 | 300115**Post-Thaw Recovery** 24 až 48 hodin**Freeze medium**

Jako kryokonzervační médium používáme kompletní růstové médium (včetně FBS) + 10 % DMSO pro zajištění dostatečné životaschopnosti po rozmrazení nebo CM-1 (katalogové číslo 800100 společnosti Cytion), které obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory pro zlepšení regenerace a snížení stresu způsobeného kryo.

Thawing and Culturing Cells

1. Ověřte si, že lahvička zůstane při dodání hluboce zmrazená, protože buňky se přepravují na suchém ledu, aby se během přepravy udržely optimální teploty.
2. Po obdržení kryovialku buď okamžitě uložte při teplotě nižší než $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, abyste zajistili zachování buněčné integrity, nebo přejděte ke kroku 3, pokud je nutná okamžitá kultivace.
3. Pro okamžitou kultivaci rychle rozmrazte lahvičku ponořením do vodní lázně o teplotě $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ s čistou vodou a antimikrobiálním prostředkem a jemně ji míchejte po dobu 40-60 sekund, dokud nezůstane malý ledový chuchvalec.
4. Všechny další kroky provádějte za sterilních podmínek v průtokové digestoři a před otevřením kryovialku dezinfikujte 70% ethanolem.
5. Opatrně otevřete dezinfikovanou lahvičku a přeneste buněčnou suspenzi do 15 ml centrifugační zkumavky obsahující 8 ml kultivačního média o pokojové teplotě a jemně promíchejte.
6. Směs odstředujte při $300 \times g$ po dobu 3 minut, aby se buňky oddělily, a supernatant obsahující zbytky mrazicího média opatrně zlikvidujte.
7. Pelety buněk jemně resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačního média. U adherentních buněk rozdělte suspenzi mezi dvě kultivační baňky T25; u suspenzních kultur přeneste veškeré médium do jedné baňky T25, abyste podpořili účinnou interakci a růst buněk.
8. Dodržujte zavedené subkultivační protokoly pro kontinuální růst a udržování buněčné linie, čímž zajistíte spolehlivé výsledky experimentů.

Incubation Atmosphere37 °C, 5 %_{CO2}, zvlhčená atmosféra.**Flask Coating**

Žádný

Buňky MOLT-4 | 300115**Freezing Procedure**

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

Shipping Conditions

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

Storage Conditions

Pro dlouhodobé uchování umístěte lahvičky do kapalného dusíku v plynné fázi při teplotě přibližně -150 až -196 °C. Skladování při -80 °C je přijatelné pouze jako krátký přechodný krok před přemístěním do kapalného dusíku.

Kontrola kvality / Genetický profil / HLA**Sterility**

Kontaminace mykoplazmaty je vyloučena jak pomocí testů založených na PCR, tak pomocí luminiscenčních metod detekce mykoplazmy.

Aby se zajistilo, že nedojde ke kontaminaci bakteriemi, plísněmi nebo kvasinkami, jsou buněčné kultury denně podrobovány vizuálním kontrolám.

Profil STR

CSF1PO: 11,12
D13S317: 12,13
D16S539: 11,14
D5S818: 12
D7S820: 8,10,11
TH01: 6,8
TPOX: 8
vWA: 17,18
D3S1358: 15,16
D21S11: 28,29,30
D18S51: 12,13,17
Penta E: 14,15,16
Penta D: 8,12,13
D8S1179: 9,13,14
FGA: 22,24

Buňky MOLT-4 | 300115

Alely HLA

A*: '01:01:01, '25:01:01

B*: '18:01:01, '57:01:01

C*: '06:02:01, '12:03:01

DRB1*: '07:01:01, '12:01:01

DQA1*: '02:01:01, '05:05:01

DQB1*: '02:02:01, '03:01:01

DPB1*: '02:01:02

E: '01:01:01G