

MOLT-4-celler | 300115**Generel information****Description**

MOLT-4 er en T-lymfoblastcellelinje, der stammer fra perifert blod fra en 19-årig mandlig patient med akut lymfoblastisk leukæmi (ALL) i tilbagefald i 1971. Det er en søstercellelinje til MOLT-3, mens MOLT-4 viser et usædvanligt T-celle antigen receptor gamma-kæde gen (T-gamma) rearrangement. MOLT-4-celler har en fordoblingstid på omkring 30 timer, vokser i suspension og er tumorigeniske i ubehandlede nøgne mus, mus behandlet med anti-lymfocyt-serum og x-bestrålede mus.

MOLT-4-celler har et hypertetraploidt kromosomtallet med et modalt kromosomtallet på 95, der forekommer i 24 % af cellerne, men viser stabile og tilbagevendende strukturelle abnormiteter i kromosomerne og længere telomerlængde. MOLT-4 udtrykker en række T-cellemarkører, herunder CD1, CD2, CD3A, CD3B, CD3C, CD4, CD5, CD6 og CD7. De udtrykker også høje niveauer af terminal deoxynukleotidyltransferase (TdT).

MOLT-4-cellelinjen producerer ikke immunglobulin eller Epstein-Barr-virus. Patienten, som cellerne stammer fra, havde tidligere fået kemoterapi med flere stoffer. Der er en G -> A-mutation ved codon 248 i p53-genet, og P53 udtrykkes ikke. Linjen var oprindeligt kontamineret med mycoplasma, men er siden blevet kureret med antibiotika.

Organism Menneske**Tissue** Perifert blod**Disease** Voksen T akut lymfoblastisk leukæmi**Synonyms** Molt-4, MOLT 4, Molt 4, MOLT.4, MOLT4, Molt4, GM02219, GM02219C, GM2219C, GM02219D**Karakteristika****Age** 19 år**Gender** Mand**Ethnicity** Kaukasisk**Morphology** Runde celler**Cell type** T-lymfocyt**Growth properties** Ophængning**Regulatoriske data**

MOLT-4-celler | 300115**Citation** MOLT-4 (Cytion katalognummer 300115)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_0013**Biomolekylære data****Protein expression** P53-positiv**Antigen expression** CD1 (49 %), CD2 (35 %), CD3 A (26 %) B (33 %) C (34 %), CD4 (55 %), CD5 (72 %), CD6 (22 %), CD7 (77 %)**Viruses** Cellerne producerer ikke immunglobulin eller Epstein-Barr-virus (Minowada, 1972).**Products** Der produceres høje niveauer af terminal deoxynukleotidyltransferase (TdT)**Mutational profile** G -> A-mutation ved codon 248 i p53-genet, udtrykkes P53 ikke (Rodrigues, 1990).**Karyotype** Hypertetraploid. Modaltal: 96. To x- og to Y-kromosomer.**Håndtering****Culture Medium** RPMI 1640, m: 2,0 mM stabil glutamin, m: 2,0 g/L NaHCO₃ (Cytion artikelnummer 820700a)**Supplements** Suppler mediet med 10% FBS**Subculturing** Vedligehold kulturerne ved regelmæssigt at tilføje eller udskifte mediet. Start kulturerne med en tæthed på 5×10^5 celler/ml og hold cellekoncentrationen inden for området 3×10^5 til 1×10^6 celler/ml for optimal vækst.**Seeding density** 1×10^5 celler/cm²**Fluid renewal** 2 til 3 gange om ugen**Post-Thaw Recovery** 24 til 48 timer

MOLT-4-celler | 300115

Freeze medium

Som kryopræserveringsmedium bruger vi komplet vækstmedium (inklusive FBS) + 10 % DMSO for tilstrækkelig levedygtighed efter optøning eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som indeholder optimerede osmobybeskyttende stoffer og metaboliske stabilisatorer for at forbedre genopretningen og reducere kryo-induceret stress.

Thawing and Culturing Cells

1. Bekræft, at hætteglasset forbliver dybfrosset ved levering, da cellerne sendes på tøris for at opretholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved modtagelsen skal du enten straks opbevare kryohætteglasset ved temperaturer under $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ for at sikre, at cellernes integritet bevares, eller gå videre til trin 3, hvis øjeblikkelig dyrkning er påkrævet.
3. Ved øjeblikkelig dyrkning optøs hætteglasset hurtigt ved at nedsænke det i et $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ varmt vandbad med rent vand og et antimikrobielt middel og røre forsigtigt i 40-60 sekunder, indtil der kun er en lille isklump tilbage.
4. Udfør alle efterfølgende trin under sterile forhold i en flowhætte, og desinficer kryovialet med 70 % ethanol, før det åbnes.
5. Åbn forsigtigt det desinficerede hætteglas, og overfør cellesuspensionen til et 15 ml centrifugerør, der indeholder 8 ml kulturmedium ved stuetemperatur, og bland forsigtigt.
6. Centrifuger blandingen ved $300 \times g$ i 3 minutter for at adskille cellerne, og kassér omhyggeligt supernatanten, der indeholder resterende frysemedium.
7. Resuspender forsigtigt cellepelleten i 10 ml frisk dyrkningsmedium. For klæbende celler deles suspensionen mellem to T25-kulturkolber; for suspensionskulturer overføres alt mediet til en T25-kolbe for at fremme effektiv celleinteraktion og -vækst.
8. Overhold etablerede subkulturprotokoller for fortsat vækst og vedligeholdelse af cellelinjen, hvilket sikrer pålidelige eksperimentelle resultater.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , befugtet atmosfære.

Flask Coating

Ingen

Freezing Procedure

Kryopræservede cellelinjer sendes på tøris i valideret, isoleret emballage med tilstrækkeligt kølemiddel til at opretholde ca. $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hele transporten. Ved modtagelse skal beholderen straks inspiceres, og hætteglassene skal straks overføres til passende opbevaring.

MOLT-4-celler | 300115

Shipping Conditions

Kryopræservede cellelinjer sendes på tøris i valideret, isoleret emballage med tilstrækkeligt kølemiddel til at opretholde ca. -78 °C under hele transporten. Ved modtagelse skal beholderen straks inspiceres, og hætteglassene skal straks overføres til passende opbevaring.

Storage Conditions

For langtidsopbevaring anbringes hætteglas i flydende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Opbevaring ved -80 °C er kun acceptabelt som et kort mellemtrin før overførsel til flydende nitrogen.

Kvalitetskontrol / Genetisk profil / HLA

Sterility

Mycoplasma-kontaminering udelukkes ved hjælp af både PCR-baserede assays og luminescensbaserede mycoplasma-detektionsmetoder.

For at sikre, at der ikke er nogen bakterie-, svampe- eller gærforurening, underkastes cellekulturerne daglige visuelle inspektioner.

HLA-alleler

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