

MOLT-4 rakud | 300115**Üldine teave****Description**

MOLT-4 on T-lümfoblastide rakuliin, mis on saadud 1971. aastal retsidiivse ägeda lümfoblastse leukeemiaga (ALL) 19-aastase meessoost patsiendi perifeersest verest. See on MOLT-3 sõsarrakkude liin, samas kui MOLT-4 näitab ebataavalist T-rakkude antigeeni retseptori gammaahela geeni (T-gamma) ümberkorraldust. MOLT-4 rakkude kahekordistumisaeg on umbes 30 tundi, nad kasvavad suspensioonis ja on tuumorigeensed töötlemata alasti hiirtel, lümfotsüüdivastase seerumiga töödeldud hiirtel ja x-kiiritatud hiirtel.

MOLT-4 rakkudel on hüpertetraploidne kromosoomide arv, mille modaalne kromosoomide arv 95 esineb 24%-l rakkudest, kuid neil esineb stabiilseid ja korduvaid kromosoomide struktuurilisi kõrvalekaldeid ja pikemaid telomeeride pikkusi. MOLT-4 ekspresseerib mitmeid T-rakkude markereid, sealhulgas CD1, CD2, CD3A, CD3B, CD3C, CD4, CD5, CD6 ja CD7. Samuti ekspresseerivad nad suurel määral terminaalset desoksünukleotidültransferaasi (TdT).

MOLT-4 rakuliin ei tooda immunoglobuliini ega Epstein-Barri viirust. Patsient, kellelt rakud saadi, oli eelnevalt saanud multiresistentset keemiaravi. P53 geeni koodonis 248 on G -> A mutatsioon ja P53 ei ekspresseeru. Algselt oli liin saastunud mükoplasmaga, kuid on vahepeal antibiootikumidega ravitud.

Organism Inimene**Tissue** Perifeerne veri**Disease** Täiskasvanute T-akuutne lümfoblastileukeemia**Synonyms** Molt-4, MOLT 4, Molt 4, MOLT.4, MOLT4, Molt4, GM02219, GM02219C, GM2219C, GM02219C, GM02219D**Omadused****Age** 19 aastat**Gender** Mees**Ethnicity** Kaukaasia**Morphology** Ümmargused rakud**Cell type** T-lümfotsüüt**Growth properties** Peatamine**Regulatiivsed andmed**

MOLT-4 rakud | 300115**Citation** MOLT-4 (Cytioni katalooginumber 300115)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_0013**Biomolekulaarsed andmed****Protein expression** P53 positiivne**Antigen expression** CD1 (49%), CD2 (35%), CD3 A (26%) B (33%) C (34%), CD4 (55%), CD5 (72%), CD6 (22%), CD7 (77%)**Viruses** Rakud ei tooda immunoglobuliini ega Epstein-Barri viirust (Minowada, 1972).**Products** Tekib suures koguses terminaalses desoksünukleotidültransferaasi (TdT)**Mutational profile** G -> A mutatsioon p53 geeni koodonis 248, P53 ei ekspresseeru (Rodrigues, 1990).**Karyotype** Hüpertetraploidne. Modaalnumber: 96. Kaks x- ja kaks Y-kromosoomi.**Töötlemine****Culture Medium** RPMI 1640, w: 2,0 mM stabiilne glutamiin, w: 2,0 g/L NaHCO₃ (Cytioni artikli number 820700a)**Supplements** Täiendada söötme 10% FBS-ga**Subculturing** Säilitage kultuure, lisades või asendades perioodiliselt kasvukeskkonda. Alustage kultuuride kasvatamist tihedusega 5×10^5 rakku/ml ja hoidke rakkude kontsentratsioon vahemikus 3×10^5 kuni 1×10^6 rakku/ml optimaalse kasvu tagamiseks.**Seeding density** 1×10^5 rakku/cm²**Fluid renewal** 2 kuni 3 korda nädalas

MOLT-4 rakud | 300115**Post-Thaw Recovery** 24 kuni 48 tundi**Freeze medium** Krüosäilitusvedelikusena kasutame täielikku kasvukeskkonda (sh FBS) + 10% DMSO, et tagada piisav elujõulisus pärast sulatamist, või CM-1 (Cytioni katalooginumber 800100), mis sisaldab optimeeritud osmoprotektante ja metaboolseid stabilisaatoreid, et parandada taastumist ja vähendada krüostressi.**Thawing and Culturing Cells**

1. Veenduge, et vial jääb tarnimisel sügavkülmutatud, sest rakud transporditakse kuiva jääga, et säilitada optimaalne temperatuur transpordi ajal.
2. Pärast kättesaamist säilitage krüoviaal kas kohe temperatuuril alla $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, et tagada rakkude terviklikkuse säilimine, või jätkake sammuga 3, kui on vaja koheselt kultiveerida.
3. Kohese kultiveerimise korral sulatage vial kiiresti, kastes selle $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ veevanni puhta vee ja antimikroobse ainega, segades seda õrnalt 40-60 sekundit, kuni alles jääb väike jääklomp.
4. Tehke kõik järgmised toimingud steriilsetes tingimustes vooluhoodis, desinfitseerides krüoviaal enne avamist 70% etanooliga.
5. Avage desinfitseeritud vial ettevaatlikult ja viige rakususpensioon ettevaatlikult segades 15 ml tsentrifuugitorusse, mis sisaldab 8 ml toatemperatuuril olevat kasvukeskkonda.
6. Rakkude eraldamiseks tsentrifuugige segu 300 x g juures 3 minutit ja visake ülejäänud külmutusvedelikku sisaldav supernatant ettevaatlikult ära.
7. Resuspendeerige rakupellet ettevaatlikult 10 ml värskes kasvukeskkonnas. Adhereerivate rakkude puhul jagage suspensioon kahe T25 kultuurkolvi vahel; suspensioonikultuuride puhul kandke kogu söötme keskkond ühte T25 kolbi, et soodustada rakkude tõhusat koostoimet ja kasvu.
8. Järgige kehtestatud subkultuuriprotokolle rakuliini jätkuvaks kasvuks ja säilitamiseks, tagades usaldusväärsed katsetulemused.

Incubation Atmosphere 37°C , 5% CO_2 , niisutatud atmosfäär.**Flask Coating** Puudub**Freezing Procedure** Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

MOLT-4 rakud | 300115

Shipping Conditions

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu -78 °C. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige viaalid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

Storage Conditions

Pikaajaliseks säilitamiseks asetage viaalid aurufaasis vedela lämmastikuga umbes -150 kuni -196 °C juures. Säilitamine temperatuuril -80 °C on vastuvõetav ainult lühikese vaheetapina enne vedela lämmastikuga üleviimist.

Kvaliteedikontroll / Geneetiline profiil / HLA

Sterility

Mükoplasmakontaminatsioon on välistatud nii PCR-põhiste analüüside kui ka luminescentsil põhinevate mükoplasma tuvastamise meetodite abil.

Bakteriaalse, seene- või pärmsaaste puudumise tagamiseks kontrollitakse rakukultuure iga päev visuaalselt.

HLA alleles

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