

**MOLT-4-solut | 300115****Yleisiä tietoja****Description**

MOLT-4 on T-lymfoblastisolulinja, joka on peräisin 19-vuotiaan, vuonna 1971 uusiutunutta akuuttia lymfoblastileukemiaa (ALL) sairastavan miespotilaan perifeerisestä verestä. Se on MOLT-3:n sisäsolulinja, mutta MOLT-4:ssä on epätavallinen T-soluantigeenireseptorin gammaketjun geenin (T-gamma) uudelleenjärjestely. MOLT-4:n solujen kaksinkertaistumisaika on noin 30 tuntia, ne kasvavat suspensiossa ja ovat kasvaimia aiheuttavia käsittelemättömillä alastomilla hiirillä, anti-lymfosyyttiseerumilla käsitellyillä hiirillä ja x-säteilytetyillä hiirillä.

MOLT-4-soluilla on hypertetraploidinen kromosomiluku, ja modaalin kromosomiluku 95 esiintyy 24 prosentissa soluista, mutta niissä on vakiintuneita ja toistuvia kromosomien rakenteellisia poikkeavuuksia ja pidempiä telomeereja. MOLT-4 ilmentää useita T-solujen merkkiaineita, kuten CD1, CD2, CD3A, CD3B, CD3C, CD4, CD5, CD6 ja CD7. Ne ilmentävät myös suuria määriä terminaalista deoks nukleotidyyli transferaasia (TdT).

MOLT-4-solulinja ei tuota immunoglobuliinia eikä Epstein-Barr-virusta. Potilas, jolta solut saatiin, oli aiemmin saanut monilääkkeistä kemoterapiaa. P53-geenin kodonissa 248 on G -> A-mutaatio, eikä P53 ilmenty. Linja oli alun perin mykoplasman saastuttama, mutta se on sittemmin parantunut antibiooteilla.

**Organism** Ihminen**Tissue** Perifeerinen veri**Disease** Aikuisten akuutti T-lymfoblastileukemia**Synonyms** Molt-4, MOLT 4, Molt 4, MOLT.4, MOLT4, Molt4, GM02219, GM02219C, GM2219C, GM02219D, GM02219C, GM02219D**Ominaisuudet****Age** 19 vuotta**Gender** Mies**Ethnicity** Kaukasialainen**Morphology** Pyöreät kennot**Cell type** T-lymfosyytti**Growth properties** Jousitus

**MOLT-4-solut | 300115****Säätelytiedot**

<b>Citation</b>	MOLT-4 (Cytionin luettelonumero 300115)
<b>Biosafety level</b>	1
<b>NCBI_TaxID</b>	9606
<b>CellosaurusAccession</b>	CVCL_0013

**Biomolekyyli tiedot**

<b>Protein expression</b>	P53-positiivinen
<b>Antigen expression</b>	CD1 (49 %), CD2 (35 %), CD3 A (26 %) B (33 %) C (34 %), CD4 (55 %), CD5 (72 %), CD6 (22 %), CD7 (77 %)
<b>Viruses</b>	Solut eivät tuota immunoglobuliinia tai Epstein-Barr-virusta (Minowada, 1972).
<b>Products</b>	Tuotetaan suuria määriä terminaalista deoksinukleotidyyli transferaasia (TdT)
<b>Mutational profile</b>	G -> A-mutaatio p53-geenin kodonissa 248, P53 ei ilmestyisi (Rodrigues, 1990).
<b>Karyotype</b>	Hypertetraploidi. Modaalinumero: 96. Kaksi x- ja kaksi Y-kromosomia.

**Käsittely**

<b>Culture Medium</b>	RPMI 1640, w: 2,0 mM stabiilia glutamiinia, w: 2,0 g/L NaHCO <sub>3</sub> (Cytionin artikkelinumero 820700a)
<b>Supplements</b>	Täydennetään elatusainetta 10 %:lla FBS:llä
<b>Subculturing</b>	Ylläpidä viljelmiä lisäämällä tai vaihtamalla kasvualusta säännöllisesti. Aloita viljelyt tiheydellä $5 \times 10^5$ solua/ml ja pidä solupitoisuus välillä $3 \times 10^5$ – $1 \times 10^6$ solua/ml optimaalisen kasvun saavuttamiseksi.
<b>Seeding density</b>	$1 \times 10^5$ solua/cm <sup>2</sup>
<b>Fluid renewal</b>	2-3 kertaa viikossa

**MOLT-4-solut | 300115****Post-Thaw Recovery** 24-48 tuntia**Freeze medium**

Kryosäilytysmediana käytämme täydellistä kasvualustaa (mukaan lukien FBS) + 10 % DMSO:ta riittävän sulatuksen jälkeisen elinkelpoisuuden varmistamiseksi tai CM-1:tä (Cytionin luettelonumero 800100), joka sisältää optimoituja osmoprotectantteja ja metabolisia stabilisaattoreita, jotka parantavat elpymistä ja vähentävät kryosäilytyksen aiheuttamaa stressiä.

**Thawing and Culturing Cells**

1. Varmista, että injektiopullo pysyy syväjäädetytynä toimitettaessa, sillä solut kuljetetaan kuivajäädessä, jotta optimaalinen lämpötila säilyy kuljetuksen aikana.
2. Vastaanotettaessa kryopullo joko säilytetään välittömästi alle -150 °C:n lämpötilassa solujen eheyden säilyttämiseksi tai edetään vaiheeseen 3, jos tarvitaan välitöntä viljelyä.
3. Välitöntä viljelyä varten sulata injektiopullo nopeasti upottamalla se 37 °C:n vesihauteeseen, jossa on puhdasta vettä ja antimikrobista ainetta, ja sekoittamalla sitä varovasti 40-60 sekunnin ajan, kunnes jäädystä on jäljellä pieni jäämöhkäle.
4. Suorita kaikki seuraavat vaiheet steriileissä olosuhteissa virtaushupussa ja desinfioi kryopullo 70-prosenttisella etanolilla ennen avaamista.
5. Avaa desinfioitu injektiopullo varovasti ja siirrä solususpensio 15 ml:n sentrifugiputkeen, joka sisältää 8 ml huoneenlämpöistä elatusainetta, varovasti sekoittaen.
6. Sentrifugoi seosta 300 x g:n voimakkuudella 3 minuutin ajan solujen erottamiseksi ja hävitä varovasti supernatantti, joka sisältää jäännöspakastusmediumia.
7. Suspendoidaan solupelletti varovasti uudelleen 10 ml:aan tuoretta elatusainetta. Jos solut ovat tarttuvia, jaa suspensio kahden T25-kolvin kesken; jos kyseessä ovat suspensioviljelmät, siirrä kaikki väliaine yhteen T25-kolviin solujen tehokkaan vuorovaikutuksen ja kasvun edistämiseksi.
8. Noudata vakiintuneita aliviljelyprotokollia solulinjan jatkuvan kasvun ja ylläpidon varmistamiseksi ja luotettavien kokeellisten tulosten varmistamiseksi.

**Incubation Atmosphere**37 °C, 5 %<sub>CO2</sub>, kostutettu ilmakehä.**Flask Coating** Ei mitään

## MOLT-4-solut | 300115

### Freezing Procedure

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäässä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

### Shipping Conditions

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäässä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

### Storage Conditions

Pitkäaikaissäilytystä varten injektiopullot asetetaan höyryfaasissa olevaan nestemäiseen tyypeen noin -150 - -196 °C:een. Säilytys -80 °C:ssa on hyväksyttävää vain lyhyenä välivaiheena ennen siirtoa nestemäiseen tyypeen.

## Laadunvalvonta / Geneettinen profiili / HLA

### Sterility

Mykoplasmaakontaminaatio suljetaan pois sekä PCR-pohjaisilla määrittelyillä että luminesenssiin perustuvilla mykoplasman osoitusmenetelmillä.

Bakteeri-, sieni- tai hiivakontaminaation välttämiseksi soluviljelmät tarkastetaan päivittäin silmämääräisesti.

### HLA-alleelit

**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