

MOLT-4 sejtek | 300115

Általános információk

Description

A MOLT-4 egy T-limfoblaszt sejtvonal, amely egy 19 éves férfi beteg perifériás véréből származik, akut limfoblasztos leukémiában (ALL) szenvedett, 1971-ben relapszusban. Ez a MOLT-3 testvérsajtvonala, míg a MOLT-4 szokatlan T-sejt antigén receptor gamma-lánc gén (T-gamma) átrendeződést mutat. A MOLT-4 sejtek megduplázódási ideje körülbelül 30 óra, szuszpenzióban nőnek, és kezeletlen meztelen egerekben, anti-limfocita szérummal kezelt egerekben és x-sugárzott egerekben tumorigén hatásúak.

A MOLT-4 sejtek hipertetraploid kromoszómaszámmal rendelkeznek, a sejtek 24%-ában a 95-ös modális kromoszómaszám fordul elő, de a kromoszómák stabil és visszatérő szerkezeti rendellenességeket és hosszabb telomerhosszúságot mutatnak. A MOLT-4 számos T-sejt markert expresszál, beleértve a CD1, CD2, CD3A, CD3B, CD3C, CD4, CD5, CD6 és CD7 jelzőket. Magas szinten expresszálják a terminális dezoxinukleotidiltranszferázt (TdT) is.

A MOLT-4 sejtvonal nem termel immunglobulint vagy Epstein-Barr-vírust. A beteg, akitől a sejteket nyerték, korábban multidrog kemoterápiában részesült. A p53 gén 248-as kodonjánál G -> A mutáció van, és a P53 nem expresszálódik. A vonal eredetileg mikoplazmával volt fertőzött, de azóta antibiotikummal gyógyították.

Organism Emberi

Tissue Perifériás vér

Disease Felnőtt T akut limfoblasztos leukémia

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

Jellemzők

Age 19 év

Gender Férfi

Ethnicity Kaukázusi

Morphology Kerek cellák

Cell type T-limfocita

Growth properties Felfüggesztés

Szabályozási adatok

MOLT-4 sejtek | 300115**Citation** MOLT-4 (Cytion katalógusszám: 300115)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_0013**Biomolekuláris adatok****Protein expression** P53 pozitív**Antigen expression** CD1 (49%), CD2 (35%), CD3 A (26%) B (33%) C (34%), CD4 (55%), CD5 (72%), CD6 (22%), CD7 (77%)**Viruses** A sejtek nem termelnek immunglobulint vagy Epstein-Barr-vírust (Minowada, 1972).**Products** Nagy mennyiségű terminális dezoxinukleotidiltranszferáz (TdT) termelődik**Mutational profile** G -> A mutáció a p53 gén 248-as kodonjánál, a P53 nem fejeződik ki (Rodrigues, 1990).**Karyotype** Hipertetraploid. Modális szám: 96. Két x- és két Y-kromoszóma.**A kezelése****Culture Medium** RPMI 1640, w: 2,0 mM stabil glutamin, w: 2,0 g/L NaHCO₃ (Cytion 820700a cikkszám)**Supplements** A táptalajt egészítsük ki 10% FBS-szel**Subculturing** A tenyészeteket a táptalaj rendszeres hozzáadásával vagy cseréjével tartsa fenn. A tenyészeteket 5×10^5 sejt/ml sűrűséggel indítsa el, és az optimális növekedés érdekében tartsa a sejtkoncentrációt 3×10^5 és 1×10^6 sejt/ml közötti tartományban.**Seeding density** 1×10^5 sejt/cm²**Fluid renewal** hetente 2-3 alkalommal

MOLT-4 sejtek | 300115**Post-Thaw Recovery** 24-48 óra**Freeze medium**

Krioprezerváló táptalajként teljes növekedési táptalajt (beleértve az FBS-t) + 10% DMSO-t használunk a megfelelő kiolvastás utáni életképesség érdekében, vagy CM-1-et (Cytion katalógusszám: 800100), amely optimalizált ozmoprotektánsokat és metabolikus stabilizátorokat tartalmaz a regenerálódás fokozása és a krio-indukált stressz csökkentése érdekében.

Thawing and Culturing Cells

1. Ellenőrizze, hogy az injekciós üveg a szállításkor mélyhűtött marad-e, mivel a sejteket szárazjégen szállítják, hogy a szállítás során az optimális hőmérsékletet fenntartsák.
2. Átvételt követően vagy azonnal tárolja a krioampullát $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ alatti hőmérsékleten a sejtek integritásának megőrzése érdekében, vagy folytassa a 3. lépéssel, ha azonnali tenyésztésre van szükség.
3. Azonnali tenyésztés esetén gyorsan fel kell olvasztani az injekciós üveget úgy, hogy tiszta vízzel és antimikrobiális szerrel ellátott $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ -os vízfürdőbe merítjük, és 40-60 másodpercig óvatosan kevergetjük, amíg egy kis jégcsomó nem marad.
4. Az összes további lépést steril körülmények között, áramlásos elszívóban végezzük el, és nyitás előtt fertőtlenítsük a krioümlékét 70%-os etanollal.
5. Óvatosan nyissa fel a fertőtlenített fiolát, és a sejtszuszpenziót óvatosan összekeverve helyezze át egy 15 ml-es centrifugacsőbe, amely 8 ml szobahőmérsékletű táptalajt tartalmaz.
6. Centrifugáljuk az elegyet $300 \times g$ -n 3 percig a sejtek szétválasztásához, és óvatosan dobjuk el a maradék fagyasztóközeget tartalmazó felülúszót.
7. Óvatosan szuszpendáljuk újra a sejt pelletet 10 ml friss táptalajban. Adhezív sejtek esetében ossza a szuszpenziót két T25-ös tenyésztőlombik között; szuszpenziós kultúrák esetében az összes tápfolyadékot tegye át egy T25-ös lombikba a hatékony sejt kölcsönhatás és növekedés elősegítése érdekében.
8. A sejtvonal folyamatos növekedése és fenntartása érdekében tartsa be a megállapított szubkultúra protokollokat, biztosítva a megbízható kísérleti eredményeket.

Incubation Atmosphere $37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , párasított légkör.**Flask Coating**

Nincs

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

A kriokonzervált sejtvonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül -78 °C-on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

Shipping Conditions

A kriokonzervált sejtvonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül -78 °C-on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

Storage Conditions

Hosszú távú tartósítás céljából helyezze az üvegeket gőzfázisú folyékony nitrogénbe, körülbelül -150 és -196 °C közötti hőmérsékleten. A -80 °C-on történő tárolás csak rövid átmeneti lépésként fogadható el a folyékony nitrogénbe való átvitel előtt.

Minőségellenőrzés / Genetikai profil / HLA**Sterility**

A mikoplazma-szennyeződést mind a PCR-alapú vizsgálatokkal, mind a lumineszcencia-alapú mikoplazma-kimutatási módszerekkel kizárják.

A bakteriális, gombás vagy élesztőgombás szennyeződés elkerülése érdekében a sejtkultúrákat napi vizuális ellenőrzésnek vetik alá.

HLA allélok

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