

**MOLT-4 ląstelės | 300115****Bendra informacija****Description**

MOLT-4 yra T limfoblastų ląstelių linija, gauta iš 19 metų vyro, sergančio ūmine limfoblastine leukemija (ÜLL), kurios recidyvas įvyko 1971 m., periferinio kraujo. Tai MOLT-3 gimininga ląstelių linija, o MOLT-4 pasižymi neįprastu T ląstelių antigeno receptoriaus gama grandinės geno (T-gama) pertvarkymu. MOLT-4 ląstelių padvigubėjimo laikas yra apie 30 valandų, jos auga suspensijoje ir yra navikinės neapdorotose nuogose pelėse, antilimfocitų serumu apdorotose pelėse ir rentgeno spinduliuote apšvitintose pelėse.

MOLT-4 ląstelės turi hipertetraploidinį chromosomų skaičių, o modalinis chromosomų skaičius 95 pasitaiko 24 % ląstelių, tačiau joms būdingi stabilūs ir pasikartojantys struktūriniai chromosomų pakitimai ir ilgesnis telomerų ilgis. MOLT-4 išreiškia įvairius T ląstelių žymenis, įskaitant CD1, CD2, CD3A, CD3B, CD3C, CD4, CD5, CD6 ir CD7. Jie taip pat išreiškia didelį kiekį terminalinės deoksiribonukleotidiltransferazės (TdT).

MOLT-4 ląstelių linija negamina imunoglobulino ir Epšteino-Barro viruso. Pacientui, iš kurio buvo gautos ląstelės, prieš tai buvo taikyta chemoterapija daugeliu vaistų. P53 geno 248 kodone yra G → A mutacija, ir P53 nėra išreikštas. Iš pradžių linija buvo užkrėsta mikoplazma, bet vėliau buvo išgydyta antibiotikais.

**Organism** Žmogus**Tissue** Periferinis kraujas**Disease** Suaugusiųjų T ūminė limfoblastinė leukemija**Synonyms** Molt-4, MOLT 4, Molt 4, MOLT.4, MOLT4, Molt4, GM02219, GM02219C, GM2219C, GM2219C, GM02219D**Charakteristikos****Age** 19 metų**Gender** Vyras**Ethnicity** Kaukaziečių**Morphology** Apvalios ląstelės**Cell type** T limfocitas**Growth properties** Pakaba**Reguliavimo duomenys**

**MOLT-4 ląstelės | 300115****Citation** MOLT-4 (Cytion katalogo numeris 300115)**Biosafety level** 1**NCBI\_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL\_0013**Biomolekuliniai duomenys****Protein expression** P53 teigiamas**Antigen expression** CD1 (49 %), CD2 (35 %), CD3 A (26 %) B (33 %) C (34 %), CD4 (55 %), CD5 (72 %), CD6 (22 %), CD7 (77 %)**Viruses** Ląstelės negamina imunoglobulino ir Epšteino-Barro viruso (Minowada, 1972).**Products** Susidaro didelis kiekis terminalinės deoksinukleotidiltransferazės (TdT)**Mutational profile** G -> A mutacija p53 geno 248 kodone, P53 nėra išreikštas (Rodrigues, 1990).**Karyotype** Hipertetraploidai. Modalinis numeris: 96. Dvi x ir dvi Y chromosomos.**Tvarkymas****Culture Medium** RPMI 1640, š: 2,0 mM stabilus glutaminas, š: 2,0 g/L NaHCO<sub>3</sub> (Cytion gaminio numeris 820700a)**Supplements** Papildykite terpę 10 % FBS**Subculturing** Kultūras prižiūrėkite periodiškai papildydami arba keisdami terpę. Kultūras pradėkite su  $5 \times 10^5$  ląstelių/ml tankiu ir, siekdami optimalaus augimo, palaikykite ląstelių koncentraciją nuo  $3 \times 10^5$  iki  $1 \times 10^6$  ląstelių/ml.**Seeding density**  $1 \times 10^5$  ląstelių/cm<sup>2</sup>**Fluid renewal** 2-3 kartus per savaitę

**MOLT-4 ląstelės | 300115****Post-Thaw Recovery** 24-48 valandos**Freeze medium**

Kaip kriokonservavimo terpę naudojame visišką augimo terpę (įskaitant FBS) + 10 % DMSO, kad būtų užtikrintas tinkamas gyvybingumas po atšildymo, arba CM-1 (Cytion katalogo numeris 800100), kurioje yra optimizuotų osmoprotektorių ir medžiagų apykaitos stabilizatorių, kad būtų pagerintas atsigavimas ir sumažintas kriokonservavimo sukeltas stresas.

**Thawing and Culturing Cells**

1. Patikrinkite, ar pristatant buteliuką jis išlieka gerai užšaldytas, nes ląstelės gabenamos ant sauso ledo, kad gabenimo metu būtų palaikoma optimali temperatūra.
2. Gavę iš karto laikykite kriovialą žemesnėje nei -150 °C temperatūroje, kad užtikrintumėte ląstelių vientisumo išsaugojimą, arba pereikite prie 3 veiksmo, jei reikia nedelsiant kultivuoti.
3. Jei norite nedelsiant pradėti kultivuoti, greitai atšildykite buteliuką panardindami jį į 37 °C temperatūros vandens vonelę su švairiu vandeniu ir antimikrobine priemone, švelniai maišydami 40-60 sekundžių, kol liks nedidelis ledo gabalėlis.
4. Visus tolesnius veiksmus atlikite steriliomis sąlygomis srauto gaubte, prieš atidarydami kriovialą dezinfekuokite jį 70 % etanoliu.
5. Atsargiai atidarykite dezinfekuotą buteliuką ir perpilkite ląstelių suspensiją į 15 ml centrifugos mėgintuvėlį, kuriame yra 8 ml kambario temperatūros mitybinės terpės, atsargiai išmaišykite.
6. Mišinį centrifuguokite 300 x g greičiu 3 minutes, kad atsiskirtų ląstelės, ir atsargiai išmeskite supernatantą su šaldymo terpės likučiais.
7. Švelniai resuspenduokite ląstelių granules 10 ml šviežios mitybinės terpės. Jei ląstelės yra prigludusios, suspensiją padalykite į dvi T25 kolbas; jei tai suspensinės kultūros, visą terpę perkelkite į vieną T25 kolbą, kad paskatintumėte veiksmingą ląstelių sąveiką ir augimą.
8. Laikykitės nustatytų subkultūrų protokolų, kad ląstelių linija nuolat augtų ir būtų palaikoma, taip užtikrinant patikimus eksperimentų rezultatus.

**Incubation Atmosphere**37 °C, 5 %<sub>CO2</sub>, drėkintoje atmosferoje.**Flask Coating**

Nėra

## MOLT-4 ląstelės | 300115

### Freezing Procedure

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug -78 °C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelkite mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

### Shipping Conditions

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug -78 °C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelkite mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

### Storage Conditions

Norėdami ilgai saugoti, įdėkite buteliukus į garų fazės skystą azotą maždaug -150-196 °C temperatūroje. Laikymas -80 °C temperatūroje yra priimtinas tik kaip trumpas tarpinis etapas prieš perkeliant į skystąjį azotą.

## Kokybės kontrolė / Genetinis profilis / HLA

### Sterility

Mikoplazmos užterštumas atmetamas taikant PGR pagrįstus tyrimus ir liuminescencinius mikoplazmos aptikimo metodus.

Siekiant užtikrinti, kad nebūtų užteršimo bakterijomis, grybeliais ar mielėmis, ląstelių kultūros kasdien vizualiai tikrinamos.

### HLA aleliai

**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