

MOLT-4 šūnas | 300115**Vispārīga informācija****Description**

MOLT-4 ir T limfoblastu šūnu līnija, kas iegūta no perifērajām asinīm 19 gadus vecam vīrietim, kuram 1971. gadā bija akūta limfoblastiskā leikēmija (ALL) recidīva stadijā. Tā ir MOLT-3 māsas šūnu līnija, bet MOLT-4 uzrāda neparastu T-šūnu antigēna receptoru gamma ķēdes gēna (T-gamma) pārkārtojumu. MOLT-4 šūnu dubultošanās laiks ir aptuveni 30 stundas, tās aug suspensijā un ir audzējamas neapstrādātām nude pelēm, pret limfocītu serumu apstrādātām pelēm un ksi apstarotām pelēm.

MOLT-4 šūnām ir hipertetraploīds hromosomu skaits, un 24 % šūnu hromosomu skaits ir 95, bet tām ir stabilas un atkārtotas hromosomu struktūras anomālijas un lielāks telomēru garums. MOLT-4 ekspresē dažādus T šūnu marķierus, tostarp CD1, CD2, CD3A, CD3B, CD3C, CD4, CD5, CD6 un CD7. Tās arī lielā daudzumā ekspresē termināildeoksinukleotidiltransferāzi (TdT).

MOLT-4 šūnu līnija neražo imūnglobulīnu vai Epšteina-Barra vīrusu. Pacients, no kura tika iegūtas šūnas, iepriekš bija saņēmis ķīmijterapiju ar vairākiem medikamentiem. P53 gēna 248. kodonā ir G -> A mutācija, un P53 nav izteikts. Sākotnēji līnija bija inficēta ar mikoplazmu, bet kopš tā laika ir izārstēta ar antibiotikām.

Organism Cilvēks**Tissue** Perifērās asinis**Disease** Pieaugušo T akūtā limfoblastiskā leikēmija**Synonyms** Molt-4, MOLT 4, Molt 4, MOLT.4, MOLT4, Molt4, GM02219, GM02219C, GM2219C, GM2219C, GM02219D**Raksturojums****Age** 19 gadi**Gender** Vīrieši**Ethnicity** Kaukāzietis**Morphology** Apaļas šūnas**Cell type** T limfocīts**Growth properties** Apturēšana**Normatīvie dati**

MOLT-4 šūnas | 300115**Citation** MOLT-4 (Cytion kataloga numurs 300115)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_0013**Biomolekulārie dati****Protein expression** P53 pozitīvs**Antigen expression** CD1 (49%), CD2 (35%), CD3 A (26%) B (33%) C (34%), CD4 (55%), CD5 (72%), CD6 (22%), CD7 (77%)**Viruses** Šūnas neražo imūnglobulīnu vai Epšteina-Barra vīrusu (Minowada, 1972).**Products** Tiek saražots liels daudzums termināldeoksinukleotīdtransferāzes (TdT)**Mutational profile** G -> A mutācija p53 gēna 248. kodonā, P53 nav izteikts (Rodrigues, 1990).**Karyotype** Hipertetraploīds. Modālais numurs: 96. Divas x un divas Y hromosomas.**Darbs ar****Culture Medium** RPMI 1640, w: 2,0 mM stabils glutamīns, w: 2,0 g/L NaHCO₃ (Cytion izstrādājuma numurs 820700a)**Supplements** Papildināt barotni ar 10% FBS**Subculturing** Kultūras uzturiet, periodiski pievienojot vai nomainot barotni. Kultūras uzsāciet ar blīvumu 5×10^5 šūnas/ml un uzturiet šūnu koncentrāciju diapazonā no 3×10^5 līdz 1×10^6 šūnas/ml, lai nodrošinātu optimālu augšanu.**Seeding density** 1×10^5 šūnas/cm²**Fluid renewal** 2 līdz 3 reizes nedēļā

MOLT-4 šūnas | 300115**Post-Thaw Recovery** 24 līdz 48 stundas**Freeze medium** Kā kriokonservēšanas barotni mēs izmantojam pilnvērtīgu augšanas barotni (ieskaitot FBS) + 10 % DMSO, lai nodrošinātu pietiekamu dzīvotspēju pēc atkausēšanas, vai CM-1 (Cytion kataloga numurs 800100), kas ietver optimizētus osmoprotektorus un metaboliskos stabilizatorus, lai uzlabotu atveseļošanos un samazinātu krioinducēto stresu.**Thawing and Culturing Cells**

1. Pārliecinieties, ka pēc piegādes flakons paliek dziļi sasaldēts, jo šūnas tiek sūtītas uz sausā ledus, lai pārvadāšanas laikā saglabātu optimālu temperatūru.
2. Pēc saņemšanas vai nu nekavējoties uzglabāt kriovialu temperatūrā, kas zemāka par -150 °C, lai nodrošinātu šūnu integritātes saglabāšanu, vai arī turpināt 3. posmu, ja nepieciešama tūlītēja kultivēšana.
3. Tūlītējas kultivēšanas gadījumā ātri atkausējiet flakonu, iegremdējot to 37°C ūdens vannā ar tīru ūdeni un antibakteriālu līdzekli, viegli maisot 40-60 sekundes, līdz paliek neliels ledus gabaliņš.
4. Visas turpmākās darbības veiciet sterilos apstākļos plūsmas nosūcējā, pirms atvēršanas dezinficējot kriovialu ar 70% etanolu.
5. Uzmanīgi atveriet dezinficēto flakonu un pārnesiet šūnu suspensiju 15 ml centrifūgas mēģenē, kurā ir 8 ml istabas temperatūras barotnes, uzmanīgi samaisot.
6. Centrifugējiet maisījumu ar 300 x g 3 minūtes, lai atdalītu šūnas, un uzmanīgi izmetiet virskārtu, kas satur saldēšanas barotnes atlikumus.
7. Viegli resuspendēt šūnu granulas 10 ml svaigas barotnes. Adhēzijas šūnu gadījumā suspensiju sadalīt divās T25 kolbās; suspensijas kultūrām visu barotni pārnest vienā T25 kolbā, lai veicinātu efektīvu šūnu mijiedarbību un augšanu.
8. Ievērojiet noteiktos subkultūru protokolus, lai nodrošinātu nepārtrauktu šūnu līnijas augšanu un uzturēšanu, tādējādi nodrošinot uzticamus eksperimentu rezultātus.

Incubation Atmosphere 37°C, 5% CO₂, mitrināta atmosfēra.**Flask Coating** Neviens

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

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidrums daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

Shipping Conditions

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidrums daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

Storage Conditions

Ilgstošai uzglabāšanai flakonus ievietojiet šķidrā slāpekļī ar tvaika fāzi aptuveni -150 līdz -196 °C temperatūrā. Uzglabāšana -80 °C temperatūrā ir pieļaujama tikai kā īss starpposms pirms pārvietošanas uz šķidro slāpekli.

Kvalitātes kontrole / Ģenētiskais profils / HLA**Sterility**

Mikoplazmas piesārņojums tiek izslēgts, izmantojot gan uz PCR balstītus testus, gan uz luminiscenci balstītas mikoplazmas noteikšanas metodes.

Lai pārlicinātos, ka nav baktēriju, sēnīšu vai rauga piesārņojuma, šūnu kultūras katru dienu vizuāli pārbauda.

HLA alēles

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