

MOLT-4-celler | 300115**Generell informasjon****Description**

MOLT-4 er en T-lymfoblastcellelinje som stammer fra perifert blod fra en 19 år gammel mannlig pasient med akutt lymfoblastisk leukemi (ALL) i tilbakefall i 1971. Det er en søstercellelinje til MOLT-3, mens MOLT-4 viser en uvanlig rearrangering av T-celle antigenreseptor gamma-kjede-genet (T-gamma). MOLT-4-celler har en fordoblingstid på rundt 30 timer, vokser i suspensjon og er tumorigeniske i ubehandlede nakne mus, anti-lymfocyt-serumbehandlede mus og x-bestrålte mus.

MOLT-4-celler har et hypertetraploid kromosomtall med et modalt kromosomtall på 95, som forekommer i 24 % av cellene, men viser stabile og tilbakevendende strukturelle kromosomavvik og lengre telomerlengde. MOLT-4 uttrykker en rekke T-cellemarkører, inkludert CD1, CD2, CD3A, CD3B, CD3C, CD4, CD5, CD6 og CD7. De uttrykker også høye nivåer av terminal deoksynukleotidyltransferase (TdT).

MOLT-4-cellelinjen produserer ikke immunglobulin eller Epstein-Barr-virus. Pasienten som cellene stammer fra, hadde tidligere fått kjemoterapi med flere legemidler. Det er en G -> A-mutasjon ved kodon 248 i p53-genet, og P53 uttrykkes ikke. Linjen var opprinnelig kontaminert med mykoplasma, men har siden blitt kurert med antibiotika.

Organism

Menneskelig

Tissue

Perifert blod

Disease

Akutt lymfoblastisk leukemi hos voksne T

Synonyms

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

Kjennetegn**Age**

19 år

Gender

Mann

Ethnicity

Kaukasisk

Morphology

Runde celler

Cell type

T-lymfocyt

Growth properties

Oppheng

Regulatoriske data

MOLT-4-celler | 300115**Citation** MOLT-4 (Cytion katalognummer 300115)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_0013**Biomolekylære data****Protein expression** P53-positiv**Antigen expression** CD1 (49 %), CD2 (35 %), CD3 A (26 %) B (33 %) C (34 %), CD4 (55 %), CD5 (72 %), CD6 (22 %), CD7 (77 %)**Viruses** Cellene produserer ikke immunglobulin eller Epstein-Barr-virus (Minowada, 1972).**Products** Det produseres høye nivåer av terminal deoksynukleotidyltransferase (TdT)**Mutational profile** G -> A-mutasjon ved kodon 248 i p53-genet, uttrykkes ikke P53 (Rodrigues, 1990).**Karyotype** Hypertetraploid. Modalt antall: 96. To X- og to Y-kromosomer.**Håndtering****Culture Medium** RPMI 1640, m: 2,0 mM stabil glutamin, m: 2,0 g/L NaHCO₃ (Cytion artikkelnummer 820700a)**Supplements** Suppler mediet med 10 % FBS**Subculturing** Oppretthold kulturene ved å tilsette eller skifte ut mediet med jevne mellomrom. Start kulturene med en tetthet på 5×10^5 celler/ml og hold cellekonsentrasjonen innenfor området 3×10^5 til 1×10^6 celler/ml for optimal vekst.**Seeding density** 1×10^5 celler/cm²**Fluid renewal** 2 til 3 ganger per uke**Post-Thaw Recovery** 24 til 48 timer

MOLT-4-celler | 300115

Freeze medium

Som kryopreserveringsmedium bruker vi komplett vekstmedium (inkludert FBS) + 10 % DMSO for tilstrekkelig levedyktighet etter opptining, eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som inneholder optimaliserte osmobeskyttende midler og metabolske stabilisatorer for å øke utvinningen og redusere kryoindusert stress.

Thawing and Culturing Cells

1. Kontroller at hetteglasset er dypfrost ved levering, ettersom cellene sendes på tørris for å opprettholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved mottak skal hetteglasset enten oppbevares umiddelbart ved temperaturer under $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ for å sikre at cellenes integritet bevares, eller gå videre til trinn 3 hvis umiddelbar dyrking er nødvendig.
3. Ved umiddelbar dyrking tiner du hetteglasset raskt ved å senke det ned i et $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ varmt vannbad med rent vann og et antimikrobielt middel, og røre forsiktig i 40-60 sekunder til det blir en liten isklump igjen.
4. Utfør alle påfølgende trinn under sterile forhold i en strømningshette, og desinfiser kryoflasken med 70 % etanol før du åpner den.
5. Åpne det desinfiserte hetteglasset forsiktig, og overfør cellesuspensjonen til et 15 ml sentrifugerør som inneholder 8 ml romtemperert dyrkingsmedium, og bland forsiktig.
6. Sentrifuger blandingen ved $300 \times g$ i 3 minutter for å separere cellene, og kast supernatanten som inneholder rester av frysemedium, forsiktig.
7. Resuspender cellepelletten forsiktig i 10 ml nytt dyrkningsmedium. For adherente celler, del suspensjonen mellom to T25-kulturkolber; for suspensjonskulturer, overfør alt mediet til én T25-kolbe for å fremme effektiv celleinteraksjon og vekst.
8. Følg etablerte subkulturprotokoller for fortsatt vekst og vedlikehold av cellelinjen, noe som sikrer pålitelige eksperimentelle resultater.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5 % CO_2 , befuktet atmosfære.

Flask Coating

Ingen

Freezing Procedure

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca. $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

MOLT-4-celler | 300115**Shipping
Conditions**

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca. -78 °C under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

**Storage
Conditions**

For langtidsoppbevaring plasseres hetteglassene i flytende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Lagring ved -80 °C er kun akseptabelt som et kort mellomtrinn før overføring til flytende nitrogen.

Kvalitetskontroll / Genetisk profil / HLA**Sterility**

Mykoplasma-kontaminering utelukkes ved hjelp av både PCR-baserte analyser og luminescensbaserte metoder for påvisning av mykoplasma.

For å sikre at det ikke finnes bakterie-, sopp- eller gjærkontaminering, blir cellekulturene inspisert visuelt hver dag.

STR-profil

CSF1PO: 11,12
D13S317: 12,13
D16S539: 11,14
D5S818: 12
D7S820: 8,10,11
TH01: 6,8
TPOX: 8
vWA: 17,18
D3S1358: 15,16
D21S11: 28,29,30
D18S51: 12,13,17
Penta E: 14,15,16
Penta D: 8,12,13
D8S1179: 9,13,14
FGA: 22,24

HLA-alleler

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