

Komórki MOLT-4 | 300115

Informacje ogólne

Description

MOLT-4 to linia komórek limfoblastów T pochodząca z krwi obwodowej 19-letniego pacjenta z ostrą białaczką limfoblastyczną (ALL) w nawrocie w 1971 roku. Jest to siostrzana linia komórkowa MOLT-3, podczas gdy MOLT-4 wykazuje nietypową rearanżację genu łańcucha gamma receptora antygenu limfocytów T (T-gamma). Komórki MOLT-4 mają czas podwojenia wynoszący około 30 godzin, rosną w zawiesinie i są nowotworowe u nieleczonych nagich myszy, myszy leczonych surowicą antylimfocytarną i myszy napromieniowanych promieniami X.

Komórki MOLT-4 mają hipertetraploidalną liczbę chromosomów z modalną liczbą chromosomów 95 występującą w 24% komórek, ale wykazują stabilne i powtarzające się nieprawidłowości strukturalne chromosomów i dłuższą długość telomerów. MOLT-4 wykazuje ekspresję różnych markerów komórek T, w tym CD1, CD2, CD3A, CD3B, CD3C, CD4, CD5, CD6 i CD7. Wyrażają również wysoki poziom terminalnej transferazy deoksynukleotydylowej (TdT).

Linia komórkowa MOLT-4 nie wytwarza immunoglobulin ani wirusa Epsteina-Barr. Pacjent, od którego uzyskano komórki, otrzymał wcześniej chemioterapię wielolekową. Występuje mutacja G -> A w kodonie 248 genu p53, a P53 nie ulega ekspresji. Linia była początkowo zakażona mykoplazmą, ale od tego czasu została wyleczona antybiotykami.

Organism Człowiek

Tissue Krew obwodowa

Disease Ostra białaczka limfoblastyczna T u dorosłych

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

Charakterystyka

Age 19 lat

Gender Mężczyzna

Ethnicity Kaukaski

Morphology Okrągłe komórki

Cell type Limfocyt T

Growth properties Zawieszenie

Komórki MOLT-4 | 300115

Dane regulacyjne

Citation	MOLT-4 (numer katalogowy Cytion 300115)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_0013

Dane biomolekularne

Protein expression	P53 dodatni
Antigen expression	CD1 (49%), CD2 (35%), CD3 A (26%) B (33%) C (34%), CD4 (55%), CD5 (72%), CD6 (22%), CD7 (77%)
Viruses	Komórki nie wytwarzają immunoglobulin ani wirusa Epsteina-Barr (Minowada, 1972).
Products	Wytwarzane są wysokie poziomy terminalnej transferazy deoksynukleotydylowej (TdT)
Mutational profile	G -> A w kodonie 248 genu p53, P53 nie ulega ekspresji (Rodrigues, 1990).
Karyotype	Hipertetraploid. Liczba modalna: 96. Dwa chromosomy x i dwa chromosomy Y.

Obsługa

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM stabilnej glutaminy, w: 2,0 g/L NaHCO ₃ (numer artykułu Cytion 820700a)
Supplements	Uzupełnić podłoże 10% FBS
Subculturing	Kultury należy utrzymywać poprzez okresowe dodawanie lub wymianę pożywki. Kultury należy rozpocząć od gęstości 5×10^5 komórek/ml i utrzymywać stężenie komórek w zakresie od 3×10^5 do 1×10^6 komórek/ml, aby zapewnić optymalny wzrost.
Seeding density	1×10^5 komórek/cm ²

Komórki MOLT-4 | 300115**Fluid renewal** 2 do 3 razy w tygodniu**Post-Thaw Recovery** 24 do 48 godzin**Freeze medium** Jako pożywki do kriokonserwacji używamy kompletnej pożywki wzrostowej (w tym FBS) + 10% DMSO w celu zapewnienia odpowiedniej żywotności po rozmrożeniu lub CM-1 (numer katalogowy Cytion 800100), która zawiera zoptymalizowane osmoprotektanty i stabilizatory metaboliczne w celu zwiększenia regeneracji i zmniejszenia stresu wywołanego kriokonserwacją.**Thawing and Culturing Cells**

1. Upewnij się, że fiolka pozostaje głęboko zamrożona w momencie dostawy, ponieważ komórki są wysyłane w suchym lodzie, aby utrzymać optymalną temperaturę podczas transportu.
2. Po otrzymaniu należy natychmiast przechowywać fiolkę w temperaturze poniżej -150°C , aby zapewnić zachowanie integralności komórek, lub przejść do kroku 3, jeśli wymagana jest natychmiastowa hodowla.
3. W przypadku natychmiastowej hodowli należy szybko rozmrozić fiolkę, zanurzając ją w łaźni wodnej o temperaturze 37°C z czystą wodą i środkiem przeciwdrobnoustrojowym, delikatnie mieszając przez 40-60 sekund, aż pozostanie niewielka grudka lodu.
4. Wykonaj wszystkie kolejne kroki w sterylnych warunkach w kapturze przepływowej, dezynfekując fiolkę 70% etanolem przed otwarciem.
5. Ostrożnie otworzyć zdezynfekowaną fiolkę i przenieść zawiesinę komórek do 15 ml probówki wirówkowej zawierającej 8 ml podłoża hodowlanego o temperaturze pokojowej, delikatnie mieszając.
6. Wirować mieszaninę z prędkością $300 \times g$ przez 3 minuty w celu oddzielenia komórek i ostrożnie odrzucić supernatant zawierający pozostałości pożywki do zamrażania.
7. Delikatnie ponownie zawiesić osad komórek w 10 ml świeżego podłoża hodowlanego. W przypadku komórek przylegających, rozdzielić zawiesinę pomiędzy dwie kolby hodowlane T25; w przypadku hodowli zawieszonych, przenieść całą pożywkę do jednej kolby T25 w celu promowania skutecznej interakcji i wzrostu komórek.
8. Przestrzegaj ustalonych protokołów podhodowli w celu ciągłego wzrostu i utrzymania linii komórkowej, zapewniając wiarygodne wyniki eksperymentów.

Incubation Atmosphere 37°C , 5% CO_2 , nawilżona atmosfera.**Flask Coating** Brak

Komórki MOLT-4 | 300115

Freezing Procedure

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Shipping Conditions

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Storage Conditions

W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiolki w ciekłym azocie w fazie lotnej w temperaturze od -150 do -196 °C. Przechowywanie w temperaturze -80 °C jest dopuszczalne tylko jako krótki etap przejściowy przed przeniesieniem do ciekłego azotu.

Kontrola jakości / Profil genetyczny / HLA

Sterility

Zanieczyszczenie mykoplazmą jest wykluczone przy użyciu zarówno testów opartych na PCR, jak i metod wykrywania mykoplazmy opartych na luminescencji.

Aby upewnić się, że nie ma zanieczyszczenia bakteriami, grzybami lub drożdżami, hodowle komórkowe są poddawane codziennym kontrolom wizualnym.

Profil STR

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

Komórki MOLT-4 | 300115

Allele HLA

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