

**Bunky MOLT-4 | 300115****Všeobecné informácie****Description**

MOLT-4 je línia T-lymfoblastových buniek získaná z periférnej krvi 19-ročného muža s akútnou lymfoblastovou leukémiou (ALL) v relapse v roku 1971. Je to sesterská bunková línia MOLT-3, pričom MOLT-4 vykazuje neobvyklú prestavbu génu gama reťazca T-bunkového antigénového receptora (T-gamma). Bunky MOLT-4 majú zdvojovací čas približne 30 hodín, rastú v suspenzii a sú nádorové u neliečených nahých myší, myší liečených antilymfocytárnym sérom a u myší ožiarených x-žiaričmi.

Bunky MOLT-4 majú hypertetraploidný počet chromozómov s modálnym počtom chromozómov 95, ktorý sa vyskytuje v 24 % buniek, ale vykazujú stabilné a opakujúce sa štrukturálne abnormality chromozómov a dlhšie teloméry. MOLT-4 exprimuje rôzne markery buniek T vrátane CD1, CD2, CD3A, CD3B, CD3C, CD4, CD5, CD6 a CD7. Taktiež exprimujú vysoké hladiny terminálnej deoxynukleotidyltransferázy (TdT).

Bunková línia MOLT-4 neprodukuje imunoglobulín ani vírus Epstein-Barrovej. Pacient, od ktorého boli bunky odvodené, dostal predtým chemoterapiu s viacerými liekmi. V kodóne 248 génu p53 je mutácia G -> A a P53 nie je exprimovaný. Línia bola pôvodne kontaminovaná mykoplazmou, ale odvtedy bola vyliečená antibiotikami.

**Organism**      Ludské**Tissue**            Periférna krv**Disease**           Akútna lymfoblastická leukémia T u dospelých**Synonyms**        Molt-4, MOLT 4, Molt 4, MOLT.4, MOLT4, Molt4, GM02219, GM02219C, GM2219C, GM02219D**Charakteristika****Age**                19 rokov**Gender**            Muži**Ethnicity**         Kaukazský**Morphology**      Okrúhle bunky**Cell type**         T lymfocyty**Growth properties**      Pozastavenie**Regulačné údaje**

**Bunky MOLT-4 | 300115****Citation** MOLT-4 (katalógové číslo Cytion 300115)**Biosafety level** 1**NCBI\_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL\_0013**Biomolekulárne údaje****Protein expression** P53 pozitívny**Antigen expression** CD1 (49%), CD2 (35%), CD3 A (26%) B (33%) C (34%), CD4 (55%), CD5 (72%), CD6 (22%), CD7 (77%)**Viruses** Bunky neprodukujú imunoglobulín ani vírus Epsteina-Barrovej (Minowada, 1972).**Products** Produkuje sa vysoké množstvo terminálnej deoxynukleotidyltransferázy (TdT)**Mutational profile** G -> A mutácia na kodóne 248 génu p53, P53 nie je exprimovaný (Rodrigues, 1990).**Karyotype** Hypertetraploid. Modálne číslo: 96. Dva chromozómy x a dva chromozómy Y.**Spracovanie****Culture Medium** RPMI 1640, w: 2,0 mM stabilný glutamín, w: 2,0 g/L NaHCO<sub>3</sub> (číslo výrobku Cytion 820700a)**Supplements** Doplňte médium o 10 % FBS**Subculturing** Kultúry udržiavajte pravidelným pridávaním alebo výmenou média. Kultúry začnite s hustotou  $5 \times 10^5$  buniek/ml a pre optimálny rast udržiajte koncentráciu buniek v rozmedzí  $3 \times 10^5$  až  $1 \times 10^6$  buniek/ml.**Seeding density**  $1 \times 10^5$  buniek/cm<sup>2</sup>**Fluid renewal** 2 až 3-krát týždenne

## Bunky MOLT-4 | 300115

**Post-Thaw Recovery** 24 až 48 hodín

**Freeze medium** Ako kryokonzervačné médium používame kompletne rastové médium (vrátane FBS) + 10 % DMSO na zabezpečenie primeranej životaschopnosti po rozmrazení alebo CM-1 (katalógové číslo 800100 spoločnosti Cytion), ktoré obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory na zlepšenie regenerácie a zníženie stresu spôsobeného kryom.

### Thawing and Culturing Cells

1. Overte si, že injekčná liekovka zostane pri doručení hlboko zmrazená, pretože bunky sa prepravujú na suchom ľade, aby sa počas prepravy udržala optimálna teplota.
2. Po prijatí buď okamžite uskladnite kryovialku pri teplote nižšej ako -150 °C, aby ste zabezpečili zachovanie bunkovej integrity, alebo prejdite na krok 3, ak je potrebná okamžitá kultivácia.
3. V prípade okamžitej kultivácie injekčnú liekovku rýchlo rozmrazte ponorením do vodného kúpeľa s teplotou 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálnym prostriedkom, pričom ju jemne miešajte 40 - 60 sekúnd, kým nezostane malý ľadový chumáč.
4. Všetky ďalšie kroky vykonajte v sterilných podmienkach v prietokovom digestore a pred otvorením kryovialku dezinfikujte 70 % etanolom.
5. Opatrne otvorte dezinfikovanú fľaštičku a preneste bunkovú suspenziu do 15 ml centrifugačnej skúmavky obsahujúcej 8 ml kultivačného média s izbovou teplotou a jemne premiešajte.
6. Zmes odstreďujte pri 300 x g počas 3 minút, aby sa bunky oddelili, a opatrne zlikvidujte supernatant obsahujúci zvyšky zmrazovacieho média.
7. Pelet buniek jemne resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačného média. V prípade adherentných buniek rozdeľte suspenziu medzi dve kultivačné banky T25; v prípade suspenzných kultúr preneste všetko médium do jednej banky T25, aby ste podporili účinnú interakciu a rast buniek.
8. Dodržiavajte zavedené subkultivačné protokoly na nepretržitý rast a udržiavanie bunkovej línie, čím sa zabezpečia spoľahlivé výsledky experimentov.

**Incubation Atmosphere** 37 °C, 5 %<sub>CO2</sub>, zvlhčená atmosféra.

**Flask Coating** Žiadne

## Bunky MOLT-4 | 300115

### Freezing Procedure

Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne -78 °C počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

### Shipping Conditions

Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne -78 °C počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

### Storage Conditions

Na dlhodobé uchovávanie umiestnite injekčné liekovky do kvapalnej fázy dusíka v pare pri teplote približne -150 až -196 °C. Skladovanie pri teplote -80 °C je prijateľné len ako krátky prechodný krok pred presunom do tekutého dusíka.

## Kontrola kvality / Genetický profil / HLA

### Sterility

Kontaminácia mykoplazmami sa vylučuje pomocou testov založených na PCR a metód detekcie mykoplazmiem založených na luminiscencii.

Aby sa zabezpečilo, že nedošlo ku kontaminácii baktériami, hubami alebo kvasinkami, bunkové kultúry sa denne vizuálne kontrolujú.

### Alely 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