

DT40-rakud | 305249

Üldine teave

Description

DT40 rakuliin on saadud kanalt (*Gallus gallus*) ja seda kasutatakse peamiselt B-rakkude bioloogia ja immunoloogia uurimise mudelina. Linnuleukoosi viiruse poolt põhjustatud bursaalse lümfoomi päritolu DT40 rakud on unikaalsed oma kõrge homoloogse rekombinatsiooni määra tõttu, mis muudab need eriti väärtuslikuks geenide sihtmärgistamise uuringutes. See omadus võimaldab teha tõhusaid ja täpseid geneetilisi muudatusi, hõlbustades uurimistööd mitmesugustes valdkondades, sealhulgas DNA parandamisel, kromosoomide dünaamikas ja geenide funktsioonis. DT40-rakkudel on kiire kasv ja stabiilne kariotüüp, mis on eelised eksperimentide korratavuse ja järjepidevuse seisukohalt. Neid kasutatakse laialdaselt immunoglobuliini geenikonversiooni ja diversifitseerumise mehhanismide uurimiseks, aidates oluliselt kaasa adaptiivse immuunsüsteemi mõistmisele. Lisaks kasutatakse DT40-rakke farmakoloogilistes uuringutes potentsiaalsete ravimühendite sõelumiseks ja rakkude reaktsioonide analüüsimiseks DNA-kahjustuste korral. Lisaks rakendustele immunoloogias ja geneetilistes uuringutes on DT40-rakud olulised ka rakuliste signaaliteede uurimisel. Need pakuvad usaldusväärset süsteemi erinevate valkude ja geenide rollide analüüsimiseks signaaliülekandes, apoptoosis ja rakutsükli reguleerimises. DT40-rakkude lihtne geneetiline manipuleeritavus koos nende bioloogilise asjakohasusega teeb neist jätkuvalt olulise vahendi biomeditsiinilistes uuringutes. Siiski on oluline märkida, et liigispetsiifiliste erinevuste tõttu tuleks DT40-rakkudes saadud tulemusi valideerida imetajate süsteemides.

Organism

Kana

Disease

Kana bursaalne lümfoom

Synonyms

DT-40, DT 40, DT40B, LSCC-DT40

Omadused

Breed/Subspecies

Hy-Line SC

Age

1 päev

Gender

Naised

Morphology

Lümfoblastilaadsed

Cell type

B-raku

Growth properties

Peatamine

Regulatiivsed andmed

DT40-rakud | 305249

Citation DT40 (Cytioni katalooginumber 305249)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9031**CellosaurusAccession** CVCL_0249

Biomolekulaarsed andmed

Receptors expressed Immunoglobuliin M**Protein expression** Immunoglobuliin M**Oncogenes** C-MYC**Tumorigenic** Jah, süngeneetsetel kanadel**Viruses** Transformant: linnuleukoosi viirus (ALV)

Töötlemine

Culture Medium DMEM, w: 4,5 g/L glükoosi, w: 4 mM L-glutamiini, w: 3,7 g/L NaHCO₃, w: 1,0 mM naatriumpüruvaati (Cytioni artikli number 820300a)**Supplements** Lisage kasvukeskkonnale 10% FBS-i, 0,05 mM 2-merkaptotetanooli, 5% kanaserumit ja 10% trüptoosfosfaadipuljongit → 2-merkaptotetanool säilib keskkonnas vaid 2–3 päeva ja 37 °C juures 24 tundi – hoida valguse eest kaitstult**Dissociation Reagent** Puudub**Subculturing** Suspensioni rakud: Eemaldage rakud substraadilt, pipeteerides värske söötmega. Üksikute rakkude saamiseks passeerige suspensioon mitu korda läbi 22 gabariitnõela ja doseerige see uutesse kolvidesse.**Seeding density** $2-4 \times 10^5$ rakku/ml

DT40-rakud | 305249

**Freeze
medium**

Krüosäilitusvedelikusena kasutame täielikku kasvukeskkonda (sh FBS) + 10% DMSO, et tagada piisav elujõulisus pärast sulatamist, või CM-1 (Cytioni katalooginumber 800100), mis sisaldab optimeeritud osmoprotektante ja metaboolseid stabilisaatoreid, et parandada taastumist ja vähendada krüostressi.

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Veenduge, et viaal jääb tarnimisel sügavkülmutatud, sest rakud transporditakse kuiva jääga, et säilitada optimaalne temperatuur transpordi ajal.
2. Pärast kättesaamist säilitage krüoviaal kas kohe temperatuuril alla -150°C , et tagada rakkude terviklikkuse säilimine, või jätkake sammuga 3, kui on vaja koheselt kultiveerida.
3. Kohese kultiveerimise korral sulatage viaali kiiresti, kastes selle 37°C veevanni puhta vee ja antimikroobse ainega, segades seda õrnalt 40-60 sekundit, kuni alles jääb väike jääklomp.
4. Tehke kõik järgmised toimingud steriilsetes tingimustes vooluhoodis, desinfitseerides krüoviaal enne avamist 70% etanooliga.
5. Avage desinfitseeritud viaali ettevaatlikult ja viige rakususpensioon ettevaatlikult segades 15 ml tsentrifuugitorusse, mis sisaldab 8 ml toatemperatuuril olevat kasvukeskkonda.
6. Rakkude eraldamiseks tsentrifuugige segu $300 \times g$ juures 3 minutit ja visake ülejäänud külmutusvedelikku sisaldav supernatant ettevaatlikult ära.
7. Resuspendeerige rakupellet ettevaatlikult 10 ml värskes kasvukeskkonnas. Adhereerivate rakkude puhul jagage suspensioon kahe T25 kultuurkolvi vahel; suspensioonikultuuride puhul kandke kogu söötmeskkond ühte T25 kolbi, et soodustada rakkude tõhusat koostoimet ja kasvu.
8. Järgige kehtestatud subkultuuriprotokolle rakuliini jätkuvaks kasvuks ja säilitamiseks, tagades usaldusväärsed katsetulemused.

**Incubation
Atmosphere**

37°C , 5% CO_2 , niisutatud atmosfäär.

**Shipping
Conditions**

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu -78°C . Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige viaalid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

**Storage
Conditions**

Pikaajaliseks säilitamiseks asetage viaalid aurufaasis vedela lämmastikuga umbes -150 kuni -196°C juures. Säilitamine temperatuuril -80°C on vastuvõetav ainult lühikese vaheetapina enne vedela lämmastikuga üleviimist.

DT40-rakud | 305249

Kvaliteedikontroll ja molekulaaranalüüs

Sterility

Mükoplasmaakontaminatsioon on välistatud nii PCR-põhiste analüüside kui ka luminesentsil põhinevate mükoplasma tuvastamise meetodite abil.

Bakteriaalse, seene- või pärmsaaste puudumise tagamiseks kontrollitakse rakukultuure iga päev visuaalselt.