

DT40-solut | 305249

Yleisiä tietoja

Description

DT40-solulinja on peräisin kanasta (*Gallus gallus*), ja sitä käytetään pääasiassa B-solujen biologian ja immunologian tutkimuksen mallina. DT40-solut ovat peräisin lintuleukoosiviruksen aiheuttamasta bursaalilymfoomasta, ja ne ovat ainutlaatuisia korkean homologisen rekombinaationopeutensa ansiosta, mikä tekee niistä erityisen arvokkaita geenikohdentamistutkimuksissa. Tämä ominaisuus mahdollistaa tehokkaat ja tarkat geneettiset muunnokset, mikä helpottaa tutkimusta useilla aloilla, kuten DNA:n korjauksessa, kromosomien dynamiikassa ja geenien toiminnassa. DT40-soluilla on nopea kasvu ja vakaa karyotyyppi, jotka ovat edullisia ominaisuuksia kokeiden toistettavuuden ja yhdenmukaisuuden kannalta. Niitä käytetään laajasti immunoglobuliinigeenien konversion ja diversifikaation mekanismien tutkimiseen, mikä edistää merkittävästi adaptiivisen immuunijärjestelmän ymmärtämistä. Lisäksi DT40-soluja hyödynnetään farmakologisessa tutkimuksessa potentiaalisten terapeuttisten yhdisteiden seulonnassa sekä solujen reaktioiden analysoinnissa DNA-vaurioihin. Immunologian ja geenitutkimuksen sovellusten lisäksi DT40-solut ovat keskeisiä solujen signaalintireittien tutkimuksessa. Ne tarjoavat vankan järjestelmän erilaisten proteiinien ja geenien roolien selvittämiseen signaalin siirrossa, apoptoosissa ja solusyklin säätelyssä. DT40-solujen helppo geneettinen manipuloitavuus yhdistettynä niiden biologiseen merkitykseen tekee niistä edelleen keskeisen työkalun biolääketieteellisessä tutkimuksessa. On kuitenkin tärkeää huomata, että DT40-soluissa saadut tulokset on validoitava nisäkkäiden järjestelmissä lajikohtaisten erojen vuoksi.

Organism

Kana

Disease

Kanan bursan lymfooma

Synonyms

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

Ominaisuudet

Breed/Subspecies

Hy-Line SC

Age

1 päivä

Gender

Nainen

Morphology

Lymfoblastien kaltaiset

Cell type

B-solu

Growth properties

Jousitus

Säätelytiedot

DT40-solut | 305249

Citation	DT40 (Cytion-tuotenumero 305249)
----------	----------------------------------

Biosafety level	1
-----------------	---

NCBI_TaxID	9031
------------	------

CellosaurusAccession	CVCL_0249
----------------------	-----------

Biomolekyylitiedot

Receptors expressed	Immunoglobuliini M
---------------------	--------------------

Protein expression	Immunoglobuliini M
--------------------	--------------------

Oncogenes	C-MYC
-----------	-------

Tumorigenic	Kyllä, syngeneisissä kanoissa
-------------	-------------------------------

Viruses	Transformantti: Lintuleukoosivirus (ALV)
---------	--

Käsittely

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/l glukoosia, w: 4 mM L-glutamiinia, w: 3,7 g/l NaHCO ₃ , w: 1,0 mM natriumpyruvaattia (Cytionin artikkelinumero 820300a)
----------------	--

Supplements	Lisää elatusaineeseen 10 % FBS:ää, 0,05 mM 2-merkapttoetanolia, 5 % kanan seerumia ja 10 % tryptosifosfaattiliemiä → 2-merkapttoetanolin säilyy elatusaineessa vain 2–3 päivää ja 24 tuntia 37 °C:ssa – suojaa valolta
-------------	--

Dissociation Reagent	Ei mitään
----------------------	-----------

Subculturing	Suspension solut: Poista solut alustasta pipetoimalla tuoreeseen väliaineeseen. Yksittäisten solujen saamiseksi suspensio ohjataan useita kertoja 22-ulotteisen neulan läpi ja annostellaan uusiin pulloihin.
--------------	---

Seeding density	$2-4 \times 10^5$ solua/ml
-----------------	----------------------------

DT40-solut | 305249

Freeze medium

Kryosäilytysmediana käytämme täydellistä kasvualustaa (mukaan lukien FBS) + 10 % DMSO:ta riittävän sulatuksen jälkeisen elinkelpoisuuden varmistamiseksi tai CM-1:tä (Cytionin luettelonumero 800100), joka sisältää optimoituja osmoprotektantteja ja metabolisia stabilisaattoreita, jotka parantavat elpymistä ja vähentävät kryosäilytyksen aiheuttamaa stressiä.

Thawing and Culturing Cells

1. Varmista, että injektiopullo pysyy syväjäädetytynä toimitettaessa, sillä solut kuljetetaan kuivajäässä, jotta optimaalinen lämpötila säilyy kuljetuksen aikana.
2. Vastaanotettaessa kryopullo joko säilytetään välittömästi alle -150 °C:n lämpötilassa solujen eheyden säilyttämiseksi tai edetään vaiheeseen 3, jos tarvitaan välitöntä viljelyä.
3. Välitöntä viljelyä varten sulata injektiopullo nopeasti upottamalla se 37 °C:n vesihauteeseen, jossa on puhdasta vettä ja mikrobilääkettä, ja sekoittamalla sitä varovasti 40-60 sekunnin ajan, kunnes jäätä on jäljellä pieni jäämöhkäle.
4. Suorita kaikki seuraavat vaiheet steriileissä olosuhteissa virtaushupussa ja desinfioi kryopullo 70-prosenttisella etanolilla ennen avaamista.
5. Avaa desinfioitu injektiopullo varovasti ja siirrä solususpensio 15 ml:n sentrifugiputkeen, joka sisältää 8 ml huoneenlämpöistä elatusainetta, varovasti sekoittaen.
6. Sentrifugoi seosta 300 x g:n voimakkuudella 3 minuutin ajan solujen erottamiseksi ja hävitä varovasti supernatantti, joka sisältää jäännöspakastusmediumia.
7. Suspendoidaan solupelletti varovasti uudelleen 10 ml:aan tuoretta elatusainetta. Jos solut ovat tarttuvia, jaa suspensio kahden T25-kolvin kesken; jos kyseessä ovat suspensioviljelmät, siirrä kaikki väliaine yhteen T25-kolviin solujen tehokkaan vuorovaikutuksen ja kasvun edistämiseksi.
8. Noudata vakiintuneita aliviljelyprotokollia solulinjan jatkuvan kasvun ja ylläpidon varmistamiseksi ja luotettavien kokeellisten tulosten varmistamiseksi.

Incubation Atmosphere

37 °C, 5 % CO_2 , kostutettu ilmakehä.

Shipping Conditions

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäässä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

DT40-solut | 305249

Storage Conditions

Pitkäaikaissäilytystä varten injektiopullot asetetaan höyryfaasissa olevaan nestemäiseen tyypeen noin -150 - -196 °C:een. Säilytys -80 °C:ssa on hyväksyttävää vain lyhyenä välivaiheena ennen siirtoa nestemäiseen tyypeen.

Laadunvalvonta ja molekyylianalyysi

Sterility

Mykoplasmakontaminaatio suljetaan pois sekä PCR-pohjaisilla määrittelyillä että luminesenssiin perustuvilla mykoplasman osoitusmenetelmillä.

Bakteeri-, sieni- tai hiivakontaminaation välttämiseksi soluviljelmät tarkastetaan päivittäin silmämääräisesti.