

DT40 ląstelės | 305249

Bendra informacija

Description

DT40 ląstelių linija yra išgauta iš vištos (*Gallus gallus*) ir dažniausiai naudojama kaip modelis B ląstelių biologijos ir imunologijos tyrimams. DT40 ląstelės, kilusios iš paukščių leukozės viruso sukeltos bursalinės limfomos, yra unikalios dėl didelio homologinės rekombinacijos dažnio, todėl jos ypač vertingos genų taikinimo tyrimams. Ši savybė leidžia atlikti veiksmingus ir tikslus genetinius modifikavimus, palengvinančius tyrimus įvairiose srityse, įskaitant DNR remontą, chromosomų dinamiką ir genų funkcijas. DT40 ląstelės pasižymi sparčiu augimu ir stabiliu kariotipu – tai yra naudingos savybės, užtikrinančios eksperimentų pakartojamumą ir nuoseklumą. Jos plačiai naudojamos imunoglobulino genų konversijos ir diversifikacijos mechanizmų tyrimams, o tai žymiai prisideda prie mūsų supratimo apie adaptyviąją imuninę sistemą. Be to, DT40 ląstelės naudojamos farmakologiniuose tyrimuose, siekiant atrinkti potencialius terapinius junginius ir analizuoti ląstelių reakcijas į DNR pažeidimus. Be taikymo imunologijos ir genetikos tyrimuose, DT40 ląstelės taip pat yra labai svarbios tiriant ląstelių signalizacijos kelius. Jos sudaro patikimą sistemą, leidžiančią išnagrinėti įvairių baltymų ir genų vaidmenį signalų perdavime, apoptozėje ir ląstelių ciklo reguliacijoje. Lengvas genetinis manipuliavimas DT40 ląstelėmis, kartu su jų biologine reikšme, ir toliau daro jas nepakeičiamu įrankiu biomediciniuose tyrimuose. Tačiau svarbu pažymėti, kad dėl rūšims būdingų skirtumų DT40 ląstelėse gauti rezultatai turėtų būti patvirtinti žinduolių sistemose.

Organism

Vištiena

Disease

Vištų bursos limfoma

Synonyms

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

Charakteristikos

Breed/Subspecies

"Hy-Line SC

Age

1 diena

Gender

Moteris

Morphology

Į limfoblastus panašus

Cell type

B ląstelė

Growth properties

Pakaba

Reguliavimo duomenys

Citation

DT40 (Cytion katalogo numeris 305249)

DT40 ląstelės | 305249

Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9031
CellosaurusAccession	CVCL_0249

Biomolekuliniai duomenys

Receptors expressed	Imunoglobulinas M
Protein expression	Imunoglobulinas M
Oncogenes	C-MYC
Tumorigenic	Taip, singeniniuose viščiukuose
Viruses	Transformantas: paukščių leukozės virusas (ALV)

Tvarkymas

Culture Medium	DMEM, š: 4,5 g/l gliukozės, š: 4 mM L-glutamino, š: 3,7 g/l NaHCO ₃ , š: 1,0 mM natrio piruvato (Cytion gaminio numeris 820300a)
Supplements	Į terpę įpilkite 10 % FBS, 0,05 mM 2-merkaptoetanolio, 5 % vištienos serumo, 10 % triptosės fosfato sultinio → 2-merkaptoetanolis terpėje išlieka stabilus tik 2–3 dienas, o 37 °C temperatūroje – 24 valandas; saugokite nuo šviesos
Dissociation Reagent	Nėra
Subculturing	Suspensijos ląstelės: Pašalinkite ląsteles iš substrato pipete su šviežia terpe. Norėdami gauti pavienes ląsteles, kelis kartus perkoškite suspensiją per 22 kalibro adatą ir išpilstykite į naujas kolbas.
Seeding density	$2-4 \times 10^5$ ląstelių/ml
Freeze medium	Kaip kriokonservavimo terpę naudojame visišką augimo terpę (įskaitant FBS) + 10 % DMSO, kad būtų užtikrintas tinkamas gyvybingumas po atšildymo, arba CM-1 (Cytion katalogo numeris 800100), kurioje yra optimizuotų osmoprotektorių ir medžiagų apykaitos stabilizatorių, kad būtų pagerintas atsigavimas ir sumažintas kriokonservavimo sukeltas stresas.

DT40 ląstelės | 305249**Thawing and
Culturing Cells**

1. Patikrinkite, ar pristatant buteliuką jis išlieka gerai užšaldytas, nes ląstelės gabenamos ant sauso ledo, kad gabenimo metu būtų palaikoma optimali temperatūra.
2. Gavę iš karto laikykite kriovialą žemesnėje nei -150°C temperatūroje, kad užtikrintumėte ląstelių vientisumo išsaugojimą, arba pereikite prie 3 veiksmo, jei reikia nedelsiant kultivuoti.
3. Jei norite nedelsiant pradėti kultivuoti, greitai atšildykite buteliuką panardindami jį į 37°C temperatūros vandens vonelę su švriu vandeniu ir antimikrobine priemone, švelniai maišydami 40-60 sekundžių, kol liks nedidelis ledo gabalėlis.
4. Visus tolesnius veiksmus atlikite steriliomis sąlygomis srauto gaubte, prieš atidarydami kriovialą dezinfekuokite jį 70 % etanoliu.
5. Atsargiai atidarykite dezinfekuotą buteliuką ir perpilkite ląstelių suspensiją į 15 ml centrifugos mėgintuvėlį, kuriame yra 8 ml kambario temperatūros mitybinės terpės, atsargiai išmaišykite.
6. Mišinį centrifuguokite 300 x g greičiu 3 minutes, kad atsiskirtų ląstelės, ir atsargiai išmeskite supernatantą su šaldymo terpės likučiais.
7. Švelniai resuspenduokite ląstelių granules 10 ml šviežios mitybinės terpės. Jei ląstelės yra prigludusios, suspensiją padalykite į dvi T25 kolbas; jei tai suspensinės kultūros, visą terpę perkelti į vieną T25 kolbą, kad paskatintumėte veiksmingą ląstelių sąveiką ir augimą.
8. Laikykitės nustatytų subkultūrų protokolų, kad ląstelių linija nuolat augtų ir būtų palaikoma, taip užtikrinant patikimus eksperimentų rezultatus.

**Incubation
Atmosphere**

37°C , 5 % CO_2 , drėkintoje atmosferoje.

**Shipping
Conditions**

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug -78°C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelti mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

**Storage
Conditions**

Norėdami ilgai saugoti, įdėkite buteliukus į garų fazės skystą azotą maždaug -150 - 196°C temperatūroje. Laikymas -80°C temperatūroje yra priimtinas tik kaip trumpas tarpinis etapas prieš perkelti į skystąjį azotą.

Kokybės kontrolė ir molekulinė analizė

DT40 ląstelės | 305249

Sterility

Mikoplazmos užterštumas atmetamas taikant PGR pagrįstus tyrimus ir liuminescencinius mikoplazmos aptikimo metodus.

Siekiant užtikrinti, kad nebūtų užteršimo bakterijomis, grybeliais ar mielėmis, ląstelių kultūros kasdien vizualiai tikrinamos.