

DT40 šūnas | 305249

Vispārīga informācija

Description

DT40 šūnu līnija ir iegūta no vistas (*Gallus gallus*) un galvenokārt tiek izmantota kā modelis B šūnu bioloģijas un imunoloģijas pētījumiem. DT40 šūnas, kas cēlušās no putnu leikoze vīrusa izraisītas bursālās limfomas, ir unikālas savas augstās homologiskās rekombinācijas likmes dēļ, kas padara tās īpaši vērtīgas gēnu mērķēšanas pētījumos. Šī īpašība ļauj veikt efektīvas un precīzas ģenētiskas modifikācijas, atvieglojot pētījumus dažādās jomās, tostarp DNS reparācijā, hromosomu dinamikā un gēnu funkcijās. DT40 šūnām piemīt strauja augšana un stabils kariotips, kas ir izdevīgas īpašības eksperimentu atkārtojamībai un konsekvenai. Tās plaši izmanto, lai pētītu imūnglobulīnu gēnu konversijas un diversifikācijas mehānismus, kas ievērojami veicina mūsu izpratni par adaptīvo imūnsistēmu. Turklāt DT40 šūnas izmanto farmakoloģiskajos pētījumos, lai atlasītu potenciālos terapeitiskos savienojumus un analizētu šūnu reakcijas uz DNS bojājumiem. Papildus to pielietojumam imunoloģijā un ģenētiskajos pētījumos DT40 šūnas ir nozīmīgas arī šūnu signālceļu izpētē. Tās nodrošina stabilu sistēmu, lai izpētītu dažādu proteīnu un gēnu lomu signālu pārvadē, apoptozē un šūnu cikla regulācijā. Viegla ģenētiskā manipulācija ar DT40 šūnām, apvienojumā ar to bioloģisko nozīmīgumu, joprojām padara tās par būtisku instrumentu biomedicīniskajos pētījumos. Tomēr ir svarīgi atzīmēt, ka DT40 šūnās iegūtie rezultāti ir jāapstiprina zīdītāju sistēmās, ņemot vērā sugu specifiskās atšķirības.

Organism

Vistas

Disease

Vistas bursas limfoma

Synonyms

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

Raksturojums

Breed/Subspecies

Hy-Line SC

Age

1 diena

Gender

Sievietes

Morphology

Limfoblastiem līdzīgs

Cell type

B šūna

Growth properties

Apturēšana

Normatīvie dati

Citation

DT40 (Cytion kataloga numurs 305249)

DT40 šūnas | 305249

Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9031
CellosaurusAccession	CVCL_0249

Biomolekulārie dati

Receptors expressed	Imunoglobulīns M
---------------------	------------------

Protein expression	Imunoglobulīns M
--------------------	------------------

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

Tumorigenic	Jā, singēniskām vistām
-------------	------------------------

Viruses	Transformants: putnu leikoze vīruss (ALV)
---------	---

Darbs ar

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/l glikozes, w: 4 mM L-glutamīna, w: 3,7 g/l NaHCO ₃ , w: 1,0 mM nātrija piruvāta (Cytion izstrādājuma numurs 820300a)
----------------	---

Supplements	Papildiniet barotni ar 10 % FBS, 0,05 mM 2-merkaptoetanolu, 5 % vistas serumu, 10 % triptosfosfāta buljonu → 2-merkaptoetanolis barotnē ir stabils tikai 2–3 dienas un 24 stundas 37 °C temperatūrā — pasargāt no gaismas
-------------	---

Dissociation Reagent	Neviens
----------------------	---------

Subculturing	Suspensijas šūnas: Atdaliet šūnas no substrāta, pipetējot ar svaigu barotni. Lai iegūtu atsevišķas šūnas, suspensiju vairākas reizes izlaiž caur 22 collu adatu un iepilda jaunās kolbās.
--------------	---

Seeding density	2 līdz 4×10^5 šūnu/ml
-----------------	--------------------------------

Freeze medium	Kā kriokonservēšanas barotni mēs izmantojam pilnvērtīgu augšanas barotni (ieskaitot FBS) + 10 % DMSO, lai nodrošinātu pietiekamu dzīvotspēju pēc atkausēšanas, vai CM-1 (Cytion kataloga numurs 800100), kas ietver optimizētus osmoprotektorus un metaboliskos stabilizatorus, lai uzlabotu atveseļošanos un samazinātu krioinducēto stresu.
---------------	---

DT40 šūnas | 305249

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Pārliecinieties, ka pēc piegādes flakons paliek dziļi sasaldēts, jo šūnas tiek sūtītas uz sausā ledus, lai pārvadāšanas laikā saglabātu optimālu temperatūru.
2. Pēc saņemšanas vai nu nekavējoties uzglabāt kriovialu temperatūrā, kas zemāka par -150 °C, lai nodrošinātu šūnu integritātes saglabāšanu, vai arī turpināt 3. posmu, ja nepieciešama tūlītēja kultivēšana.
3. Tūlītējas kultivēšanas gadījumā ātri atkausējiet flakonu, iegremdējot to 37°C ūdens vannā ar tīru ūdeni un antibakteriālu līdzekli, viegli maisot 40-60 sekundes, līdz paliek neliels ledus gabaliņš.
4. Visas turpmākās darbības veiciet sterilos apstākļos plūsmas nosūcējā, pirms atvēršanas dezinficējot kriovialu ar 70% etanolu.
5. Uzmanīgi atveriet dezinficēto flakonu un pārnesiet šūnu suspensiju 15 ml centrifūgas mēģenē, kurā ir 8 ml istabas temperatūras barotnes, uzmanīgi samaisot.
6. Centrifugējiet maisījumu ar 300 x g 3 minūtes, lai atdalītu šūnas, un uzmanīgi izmetiet virskārtu, kas satur saldēšanas barotnes atlikumus.
7. Viegli resuspendēt šūnu granulas 10 ml svaigas barotnes. Adhēzijas šūnu gadījumā suspensiju sadalīt divās T25 kolbās; suspensijas kultūrām visu barotni pārnest vienā T25 kolbā, lai veicinātu efektīvu šūnu mijiedarbību un augšanu.
8. Ievērojiet noteiktos subkultūru protokolus, lai nodrošinātu nepārtrauktu šūnu līnijas augšanu un uzturēšanu, tādējādi nodrošinot uzticamus eksperimentu rezultātus.

**Incubation
Atmosphere**

37°C, 5% CO_2 , mitrināta atmosfēra.

**Shipping
Conditions**

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidruma daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

**Storage
Conditions**

Ilgstošai uzglabāšanai flakonus ievietojiet šķidrā slāpekļī ar tvaika fāzi aptuveni -150 līdz -196 °C temperatūrā. Uzglabāšana -80 °C temperatūrā ir pieļaujama tikai kā īss starpposms pirms pārvietošanas uz šķidro slāpekli.

Kvalitātes kontrole un molekulārā analīze

DT40 šūnas | 305249

Sterility

Mikoplazmas piesārņojums tiek izslēgts, izmantojot gan uz PCR balstītus testus, gan uz luminiscenci balstītas mikoplazmas noteikšanas metodes.

Lai pārliecinātos, ka nav baktēriju, sēnīšu vai rauga piesārņojuma, šūnu kultūras katru dienu vizuāli pārbauda.