

Buňky DT40 | 305249

Obecné informace

Description

Buněčná linie DT40 je odvozena od kuřete (*Gallus gallus*) a používá se především jako model pro studium biologie B-buněk a imunologie. Buňky DT40, které pocházejí z bursálního lymfomu vyvolaného virem ptačí leukózy, jsou jedinečné díky vysoké míře homologní rekombinace, což je činí obzvláště cennými pro studie zaměřené na cílení genů. Tato vlastnost umožňuje efektivní a přesné genetické modifikace, což usnadňuje výzkum v různých oblastech včetně oprav DNA, chromozomální dynamiky a funkce genů. Buňky DT40 vykazují rychlý růst a stabilní karyotyp, což jsou výhodné vlastnosti pro reprodukovatelnost a konzistenci experimentů. Jsou hojně využívány ke studiu mechanismů konverze a diverzifikace imunoglobulinových genů, což významně přispívá k pochopení adaptivního imunitního systému. Kromě toho se buňky DT40 využívají ve farmakologickém výzkumu při hledání potenciálních terapeutických sloučenin a při analýze buněčných reakcí na poškození DNA. Kromě využití v imunologii a genetickém výzkumu jsou buňky DT40 také užitečné při zkoumání buněčných signálních drah. Poskytují robustní systém pro zkoumání role různých proteinů a genů v přenosu signálu, apoptóze a regulaci buněčného cyklu. Snadná genetická manipulace s buňkami DT40 v kombinaci s jejich biologickým významem z nich nadále činí klíčový nástroj v biomedicínském výzkumu. Je však nezbytné poznamenat, že zjištění v buňkách DT40 by měla být ověřena v systémech savců vzhledem k druhově specifickým rozdílům.

Organism

Kuře

Disease

Kuřecí burzální lymfom

Synonyms

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

Charakteristika

Breed/Subspecies

Hy-Line SC

Age

1 den

Gender

Ženy

Morphology

Lymfoblastům podobné

Cell type

B buňka

Growth properties

Zavěšení

Regulační údaje

Citation

DT40 (katalogové číslo Cytion 305249)

Buňky DT40 | 305249

Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9031
CellosaurusAccession	CVCL_0249

Biomolekulární data

Receptors expressed	Imunoglobulin M
Protein expression	Imunoglobulin M
Oncogenes	C-MYC
Tumorigenic	Ano, u syngenních kuřat
Viruses	Transformant: Virus ptačí leukózy (ALV)

Zpracování

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/l glukózy, w: 4 mM L-glutaminu, w: 3,7 g/l NaHCO ₃ , w: 1,0 mM pyruvátu sodného (číslo výrobku Cytion 820300a)
Supplements	Doplňte médium o 10 % FBS, 0,05 mM 2-merkaptoethanolu, 5 % kuřecího séra a 10 % tryptozofosfátového bujónu → 2-merkaptoethanol je v médiu stabilní pouze 2–3 dny a 24 hodin při 37 °C – chraňte před světlem
Dissociation Reagent	Žádný
Subculturing	Suspenzní buňky: Odstraňte buňky ze substrátu pipetováním čerstvým médiem. Chcete-li získat jednotlivé buňky, propíchněte suspenzi několikrát jehlou o průměru 22 a dávkujte do nových baněk.
Seeding density	2 až 4 × 10 ⁵ buněk/ml
Freeze medium	Jako kryokonzervační médium používáme kompletní růstové médium (včetně FBS) + 10 % DMSO pro zajištění dostatečné životaschopnosti po rozmrazení nebo CM-1 (katalogové číslo 800100 společnosti Cytion), které obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory pro zlepšení regenerace a snížení stresu způsobeného kryo.

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

1. Ověřte si, že lahvička zůstane při dodání hluboce zmražená, protože buňky se přepravují na suchém ledu, aby se během přepravy udržely optimální teploty.
2. Po obdržení kryovialku buď okamžitě uložte při teplotě nižší než -150 °C, abyste zajistili zachování buněčné integrity, nebo přejděte ke kroku 3, pokud je nutná okamžitá kultivace.
3. Pro okamžitou kultivaci rychle rozmrazte lahvičku ponořením do vodní lázně o teplotě 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálním prostředkem a jemně ji míchejte po dobu 40-60 sekund, dokud nezůstane malý ledový chuchvalec.
4. Všechny další kroky provádějte za sterilních podmínek v průtokové digestoři a před otevřením kryovialku dezinfikujte 70% ethanolem.
5. Opatrně otevřete dezinfikovanou lahvičku a přeneste buněčnou suspenzi do 15 ml centrifugační zkumavky obsahující 8 ml kultivačního média o pokojové teplotě a jemně promíchejte.
6. Směs odstředujte při 300 x g po dobu 3 minut, aby se buňky oddělily, a supernatant obsahující zbytky mrazicího média opatrně zlikvidujte.
7. Pelety buněk jemně resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačního média. U adherentních buněk rozdělte suspenzi mezi dvě kultivační baňky T25; u suspenzních kultur přeneste veškeré médium do jedné baňky T25, abyste podpořili účinnou interakci a růst buněk.
8. Dodržujte zavedené subkultivační protokoly pro kontinuální růst a udržování buněčné linie, čímž zajistíte spolehlivé výsledky experimentů.

**Incubation
Atmosphere**

37 °C, 5 % CO_2 , zvlhčená atmosféra.

**Shipping
Conditions**

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

**Storage
Conditions**

Pro dlouhodobé uchování umístěte lahvičky do kapalného dusíku v plynné fázi při teplotě přibližně -150 až -196 °C. Skladování při -80 °C je přijatelné pouze jako krátký přechodný krok před přemístěním do kapalného dusíku.

Kontrola kvality a molekulární analýza

Buňky DT40 | 305249

Sterility

Kontaminace mykoplazmaty je vyloučena jak pomocí testů založených na PCR, tak pomocí luminiscenčních metod detekce mykoplazmy.

Aby se zajistilo, že nedojde ke kontaminaci bakteriemi, plísněmi nebo kvasinkami, jsou buněčné kultury denně podrobovány vizuálnímu kontrolám.