

Κύτταρα DT40 | 305249

Γενικές πληροφορίες

Description

Η κυτταρική σειρά DT40 προέρχεται από κοτόπουλο (*Gallus gallus*) και χρησιμοποιείται κυρίως ως μοντέλο για τη μελέτη της βιολογίας των B-κυττάρων και της ανοσολογίας. Τα κύτταρα DT40, τα οποία προέρχονται από λεμφώμα της βουρσίδας που προκλήθηκε από τον ιό της λευκώσης των πτηνών, διακρίνονται για τον υψηλό ρυθμό ομόλογου ανασυνδυασμού τους, γεγονός που τα καθιστά ιδιαίτερα πολύτιμα για μελέτες γονιδιακής στόχευσης. Αυτό το χαρακτηριστικό επιτρέπει αποτελεσματικές και ακριβείς γενετικές τροποποιήσεις, διευκολύνοντας την έρευνα σε διάφορους τομείς, όπως η επιδιόρθωση του DNA, η χρωμοσωμική δυναμική και η λειτουργία των γονιδίων. Τα κύτταρα DT40 παρουσιάζουν ταχεία ανάπτυξη και σταθερό καρυότυπο, χαρακτηριστικά που αποτελούν πλεονεκτήματα για την αναπαραγωγικότητα και τη συνέπεια των πειραμάτων. Χρησιμοποιούνται ευρέως για τη μελέτη των μηχανισμών μετατροπής και διαφοροποίησης των γονιδίων των ανοσοσφαιρινών, συμβάλλοντας σημαντικά στην κατανόηση του προσαρμοστικού ανοσοποιητικού συστήματος. Επιπλέον, τα κύτταρα DT40 χρησιμοποιούνται στη φαρμακολογική έρευνα για τον έλεγχο πιθανών θεραπευτικών ενώσεων και για την ανάλυση των κυτταρικών αποκρίσεων σε βλάβες του DNA. Εκτός από τις εφαρμογές τους στην ανοσολογία και τη γενετική έρευνα, τα κύτταρα DT40 διαδραματίζουν επίσης καθοριστικό ρόλο στη διερεύνηση των κυτταρικών οδών σηματοδότησης. Παρέχουν ένα αξιόπιστο σύστημα για την ανάλυση των ρόλων διαφόρων πρωτεϊνών και γονιδίων στη μεταγωγή σήματος, την απόπτωση και τη ρύθμιση του κυτταρικού κύκλου. Η ευκολία της γενετικής χειραγώγησης στα κύτταρα DT40, σε συνδυασμό με τη βιολογική τους σημασία, συνεχίζει να τα καθιστά ένα κρίσιμο εργαλείο στη βιοϊατρική έρευνα. Ωστόσο, είναι σημαντικό να σημειωθεί ότι τα ευρήματα στα κύτταρα DT40 πρέπει να επικυρώνονται σε συστήματα θηλαστικών λόγω των διαφορών που υπάρχουν μεταξύ των ειδών.

Organism

Κοτόπουλο

Disease

Λέμφωμα της βουρσίδας του κοτόπουλου

Synonyms

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

Χαρακτηριστικά

Breed/Subspecies

Hy-Line SC

Age

1 ημέρα

Gender

Γυναίκα

Morphology

Λεμφοβλάστες που μοιάζουν με λεμφοβλάστες

Cell type

Κύτταρο B

Growth properties

Αναστολή

Κύτταρα DT40 | 305249

Ρυθμιστικά δεδομένα

Citation	DT40 (αριθμός καταλόγου Cytion 305249)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9031
CellosaurusAccession	CVCL_0249

Βιομοριακά δεδομένα

Receptors expressed	Ανοσοσφαιρίνη M
Protein expression	Ανοσοσφαιρίνη M
Oncogenes	C-MYC
Tumorigenic	Ναι, σε συγγενικά κοτόπουλα
Viruses	Μετασχηματισμένο: Ιός της λευκώσης των πτηνών (ALV)

Χειρισμός

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/L γλυκόζη, w: 4 mM L-γλουταμίνη, w: 3,7 g/L NaHCO ₃ , w: 1,0 mM πυρροβικό νάτριο (αριθμός άρθρου Cytion 820300a)
Supplements	Προσθέστε στο μέσο 10% FBS, 0,05 mM 2-μερκαπτοαιθανόλη, 5% ορό κοτόπουλου, 10% ζωμό τρυπτόζης-φωσφορικού οξέος → Η 2-μερκαπτοαιθανόλη παραμένει σταθερή στο μέσο μόνο για 2-3 ημέρες και για 24 ώρες στους 37°C – προστατεύστε από το φως
Dissociation Reagent	Κανένα
Subculturing	Κύτταρα εναιωρήματος: Αφαιρέστε τα κύτταρα από το υπόστρωμα με σιφόνιο με φρέσκο μέσο. Για να λάβετε μεμονωμένα κύτταρα, περάστε το εναιώρημα αρκετές φορές από βελόνα 22 gauge και διανείμετε το εναιώρημα σε νέες φιάλες.
Seeding density	2 έως 4×10^5 κύτταρα/ml

Κύτταρα DT40 | 305249**Freeze medium**

Ως μέσο κρυοσυντήρησης, χρησιμοποιούμε πλήρες μέσο ανάπτυξης (συμπεριλαμβανομένου του FBS) + 10% DMSO για επαρκή βιωσιμότητα μετά την απόψυξη, ή CM-1 (αριθμός καταλόγου Cytion 800100), το οποίο περιλαμβάνει βελτιστοποιημένα ωσμοπροστατευτικά και μεταβολικούς σταθεροποιητές για την ενίσχυση της ανάκαμψης και τη μείωση του στρες που προκαλείται από την κρυοσυντήρηση.

Thawing and Culturing Cells

1. Επιβεβαιώστε ότι το φιαλίδιο παραμένει βαθιά παγωμένο κατά την παράδοση, καθώς τα κύτταρα αποστέλλονται σε ξηρό πάγο για να διατηρούνται οι βέλτιστες θερμοκρασίες κατά τη μεταφορά.
2. Κατά την παραλαβή, είτε αποθηκεύστε το κρυοφιαλίδιο αμέσως σε θερμοκρασίες κάτω των -150°C για να διασφαλίσετε τη διατήρηση της κυτταρικής ακεραιότητας, είτε προχωρήστε στο βήμα 3 εάν απαιτείται άμεση καλλιέργεια.
3. Για άμεση καλλιέργεια, αποψύξτε γρήγορα το φιαλίδιο βυθίζοντάς το σε υδατόλουτρο 37°C με καθαρό νερό και αντιμικροβιακό παράγοντα, αναδεύοντας απαλά για 40-60 δευτερόλεπτα μέχρι να παραμείνει ένα μικρό σβόλο πάγου.
4. Εκτελέστε όλα τα επόμενα βήματα υπό αποστειρωμένες συνθήκες σε απορροφητήρα ροής, απολυμαίνοντας το κρυοφιαλίδιο με 70% αιθανόλη πριν από το άνοιγμα.
5. Ανοίξτε προσεκτικά το απολυμασμένο φιαλίδιο και μεταφέρετε το εναιώρημα των κυττάρων σε ένα σωληνάριο φυγοκέντρωσης των 15 ml που περιέχει 8 ml θρεπτικού μέσου καλλιέργειας σε θερμοκρασία δωματίου, αναμειγνύοντας απαλά.
6. Φυγοκεντρίστε το μείγμα στα $300 \times g$ για 3 λεπτά για να διαχωριστούν τα κύτταρα και απορρίψτε προσεκτικά το υπερκείμενο που περιέχει το υπόλοιπο μέσο κατάψυξης.
7. Επανασυσσωματώστε απαλά το κυτταρικό σφαιρίδιο σε 10 ml φρέσκου μέσου καλλιέργειας. Για προσκολλημένα κύτταρα, μοιράστε το εναιώρημα σε δύο φιάλες καλλιέργειας T25- για καλλιέργειες εναιωρήματος, μεταφέρετε όλο το μέσο σε μία φιάλη T25 για να προωθήσετε την αποτελεσματική αλληλεπίδραση και ανάπτυξη των κυττάρων.
8. Τηρείτε τα καθιερωμένα πρωτόκολλα υποκαλλιέργειας για τη συνεχή ανάπτυξη και διατήρηση της κυτταρικής σειράς, εξασφαλίζοντας αξιόπιστα πειραματικά αποτελέσματα.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , υγραποιημένη ατμόσφαιρα.

Shipping Conditions

Οι κρυοσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των -78°C καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.

Κύτταρα DT40 | 305249

Storage Conditions

Για μακροχρόνια συντήρηση, τοποθετήστε τα φιαλίδια σε υγρό άζωτο σε φάση ατμών σε θερμοκρασία περίπου -150 έως -196 °C. Η αποθήκευση στους -80 °C είναι αποδεκτή μόνο ως σύντομο ενδιάμεσο βήμα πριν από τη μεταφορά σε υγρό άζωτο.

Έλεγχος ποιότητας και μοριακή ανάλυση

Sterility

Η μόλυνση από μυκόπλασμα αποκλείεται με τη χρήση τόσο των δοκιμασιών που βασίζονται στην PCR όσο και των μεθόδων ανίχνευσης μυκοπλάσματος με βάση τη φωταύγεια.

Για να διασφαλιστεί ότι δεν υπάρχει μόλυνση από βακτήρια, μύκητες ή ζύμες, οι κυτταροκαλλιέργειες υποβάλλονται σε καθημερινές οπτικές επιθεωρήσεις.