

Cellule DT40 | 305249

Informazioni generali

Description

La linea cellulare DT40 deriva dal pollo (*Gallus gallus*) ed è utilizzata principalmente come modello per lo studio della biologia delle cellule B e dell'immunologia. Originata da un linfoma bursale indotto dal virus della leucosi aviaria, le cellule DT40 sono uniche per il loro alto tasso di ricombinazione omologa, che le rende particolarmente preziose per gli studi di gene targeting. Questa caratteristica consente modifiche genetiche efficienti e precise, facilitando la ricerca in vari campi, tra cui la riparazione del DNA, la dinamica cromosomica e la funzione genica. Le cellule DT40 presentano una crescita rapida e un cariotipo stabile, caratteristiche vantaggiose per la riproducibilità e la coerenza sperimentale. Sono ampiamente utilizzate per studiare i meccanismi di conversione e diversificazione dei geni immunoglobulinici, contribuendo in modo significativo alla comprensione del sistema immunitario adattativo. Inoltre, le cellule DT40 sono impiegate nella ricerca farmacologica per lo screening di potenziali composti terapeutici e per l'analisi delle risposte cellulari ai danni al DNA. Oltre alle loro applicazioni in immunologia e nella ricerca genetica, le cellule DT40 sono anche fondamentali per studiare le vie di segnalazione cellulare. Esse costituiscono un sistema robusto per analizzare il ruolo di varie proteine e geni nella trasduzione del segnale, nell'apoptosi e nella regolazione del ciclo cellulare. La facilità di manipolazione genetica delle cellule DT40, unita alla loro rilevanza biologica, continua a renderle uno strumento cruciale nella ricerca biomedica. Tuttavia, è essenziale notare che i risultati ottenuti nelle cellule DT40 devono essere convalidati nei sistemi di mammifero a causa delle differenze specie-specifiche.

Organism

Pollo

Disease

Linfoma bursale del pollo

Synonyms

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

Caratteristiche

Breed/Subspecies

Hy-Line SC

Age

1 giorno

Gender

Donna

Morphology

Linfoblasto-simile

Cell type

Cella B

Growth properties

Sospensione

Dati normativi

Cellule DT40 | 305249

Citation	DT40 (numero di catalogo Cytion 305249)
----------	---

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

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

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

Dati biomolecolari

Receptors expressed	Immunoglobulina M
---------------------	-------------------

Protein expression	Immunoglobulina M
--------------------	-------------------

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

Tumorigenic	Sì, in polli singenici
-------------	------------------------

Viruses	Trasformante: Virus della leucosi aviaria (ALV)
---------	---

Manipolazione

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/L di glucosio, w: 4 mM di L-Glutammina, w: 3,7 g/L di NaHCO ₃ , w: 1,0 mM di piruvato di sodio (articolo Cytion numero 820300a)
----------------	---

Supplements	Aggiungere al terreno di coltura il 10% di FBS, 0,05 mM di 2-mercaptoetanolio, il 5% di siero di pollo e il 10% di brodo di triptosio fosfato → Il 2-mercaptoetanolio rimane stabile nel terreno di coltura solo per 2-3 giorni e per 24 ore a 37 °C; proteggere dalla luce
-------------	---

Dissociation Reagent	Nessuno
----------------------	---------

Subculturing	Cellule in sospensione: Rimuovere le cellule dal substrato pipettando con terreno fresco. Per ottenere cellule singole, passare la sospensione più volte attraverso un ago da 22 e dispensare in nuove fiasche.
--------------	---

Seeding density	da $2 \text{ a } 4 \times 10^5$ cellule/ml
-----------------	--

Cellule DT40 | 305249

Freeze medium

Come terreno di crioconservazione, utilizziamo un terreno di crescita completo (incluso FBS) + 10% DMSO per un'adeguata vitalità post-scongellamento, o CM-1 (numero di catalogo Cytion 800100), che include osmoprotettori e stabilizzatori metabolici ottimizzati per migliorare il recupero e ridurre lo stress crio-indotto.

Thawing and Culturing Cells

1. Verificare che la fiala rimanga profondamente congelata al momento della consegna, poiché le cellule vengono spedite con ghiaccio secco per mantenere le temperature ottimali durante il trasporto.
2. Al ricevimento, conservare immediatamente la criovial a temperature inferiori a -150°C per garantire la conservazione dell'integrità cellulare, oppure procedere al punto 3 se è necessaria una coltura immediata.
3. Per la coltura immediata, scongelare rapidamente la fiala immergendola in un bagno d'acqua a 37°C con acqua pulita e un agente antimicrobico, agitando delicatamente per 40-60 secondi finché non rimane un piccolo grumo di ghiaccio.
4. Eseguire tutte le fasi successive in condizioni di sterilità in una cappa a flusso, disinfettando la criovial con etanolo al 70% prima dell'apertura.
5. Aprire con cautela la fiala disinfettata e trasferire la sospensione cellulare in una provetta da centrifuga da 15 ml contenente 8 ml di terreno di coltura a temperatura ambiente, mescolando delicatamente.
6. Centrifugare la miscela a 300 x g per 3 minuti per separare le cellule e scartare con cura il surnatante contenente il terreno di coltura residuo.
7. Risospendere delicatamente il pellet cellulare in 10 ml di terreno di coltura fresco. Per le cellule aderenti, dividere la sospensione tra due fiasche di coltura T25; per le colture in sospensione, trasferire tutto il terreno in una fiasca T25 per promuovere l'interazione e la crescita delle cellule.
8. Attenersi ai protocolli di subcoltura stabiliti per la crescita e il mantenimento continui della linea cellulare, garantendo risultati sperimentali affidabili.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO_2 , atmosfera umidificata.

Shipping Conditions

Le linee cellulari crioconservate vengono spedite su ghiaccio secco in confezioni isolate e convalidate, con una quantità di refrigerante sufficiente a mantenere circa -78 °C durante il trasporto. Al ricevimento, ispezionare immediatamente il contenitore e trasferire immediatamente le fiale in un luogo di conservazione appropriato.

Cellule DT40 | 305249

Storage Conditions

Per la conservazione a lungo termine, porre le fiale in azoto liquido in fase vapore a una temperatura compresa tra -150 e -196 °C circa. La conservazione a -80 °C è accettabile solo come breve fase intermedia prima del trasferimento in azoto liquido.

Controllo qualità e analisi molecolare

Sterility

La contaminazione da micoplasma viene esclusa utilizzando sia saggi basati sulla PCR sia metodi di rilevamento del micoplasma basati sulla luminescenza.

Per garantire l'assenza di contaminazione batterica, fungina o da lieviti, le colture cellulari sono sottoposte a ispezioni visive quotidiane.