

DT40-celler | 305249

Generell informasjon

Description

DT40-cellelinjen stammer fra kylling (*Gallus gallus*) og brukes først og fremst som modell for studier av B-cellebiologi og immunologi. DT40-cellene stammer fra et bursal lymfom induisert av et aviært leukosevirus, og de er unike på grunn av sin høye homologe rekombinasjonsrate, noe som gjør dem spesielt verdifulle for studier av genmålretting. Denne egenskapen gjør det mulig å utføre effektive og presise genetiske modifikasjoner, noe som legger til rette for forskning på en rekke områder, blant annet DNA-reparasjon, kromosomdynamikk og genfunksjon. DT40-celler vokser raskt og har en stabil karyotype, noe som er fordelaktig med tanke på eksperimentell reproduktibilitet og konsistens. De brukes i stor utstrekning til å studere mekanismene for konvertering og diversifisering av immunoglobuliner, noe som bidrar betydelig til vår forståelse av det adaptive immunsystemet. DT40-celler brukes dessuten i farmakologisk forskning for å screene for potensielle terapeutiske forbindelser og for å analysere cellulære responser på DNA-skader. I tillegg til bruksområdene innen immunologi og genetisk forskning er DT40-celler også avgjørende for å undersøke cellulære signalveier. De er et robust system for dissekering av ulike proteins og genes rolle i signaltransduksjon, apoptose og cellyklusregulering. Den enkle genetiske manipuleringen av DT40-celler, kombinert med deres biologiske relevans, gjør dem fortsatt til et viktig verktøy i biomedisinsk forskning. Det er imidlertid viktig å merke seg at funn i DT40-celler bør valideres i pattedyrsystemer på grunn av artsspesifikke forskjeller.

Organism

Kylling

Disease

Lymfom i hønsebursal

Synonyms

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

Kjennetegn

Breed/Subspecies

Hy-Line SC

Age

1 dag

Gender

Kvinne

Morphology

Lymfoblastlignende

Cell type

B-celle

Growth properties

Oppheng

Regulatoriske data

Citation

DT40 (Cytion-katalognummer 305249)

DT40-celler | 305249

Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9031
CellosaurusAccession	CVCL_0249

Biomolekylære data

Receptors expressed	Immunoglobulin M
---------------------	------------------

Protein expression	Immunoglobulin M
--------------------	------------------

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

Tumorigenic	Ja, i syngene kyllinger
-------------	-------------------------

Viruses	Transformant: Aviært leukosevirus (ALV)
---------	---

Håndtering

Culture Medium	DMEM, m: 4,5 g/L glukose, m: 4 mM L-glutamin, m: 3,7 g/L NaHCO ₃ , m: 1,0 mM natriumpyruvat (Cytion artikkelnummer 820300a)
----------------	--

Supplements	Tilsett 10 % FBS, 0,05 mM 2-merkaptoetanol, 5 % kyllingserum og 10 % tryptosfosfatbuljong til mediet → 2-merkaptoetanol er kun stabilt i mediet i 2–3 dager og i 24 timer ved 37 °C – beskytt mot lys
-------------	---

Dissociation Reagent	Ingen
----------------------	-------

Subculturing	Suspensjonsceller: Fjern celler fra substratet ved å pipettere med nytt medium. For å få enkeltceller, før suspensjonen flere ganger gjennom en 22 gauge nål og fordel den i nye kolber.
--------------	--

Seeding density	2 til 4×10^5 celler/ml
-----------------	---------------------------------

Freeze medium	Som kryopreserveringsmedium bruker vi komplett vekstmedium (inkludert FBS) + 10 % DMSO for tilstrekkelig levedyktighet etter opptining, eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som inneholder optimaliserte osmobeskyttende midler og metabolske stabilisatorer for å øke utvinningen og redusere kryoinduisert stress.
---------------	--

DT40-celler | 305249

Thawing and Culturing Cells

1. Kontroller at hetteglasset er dypfrost ved levering, ettersom cellene sendes på tørris for å opprettholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved mottak skal hetteglasset enten oppbevares umiddelbart ved temperaturer under -150°C for å sikre at cellenes integritet bevares, eller gå videre til trinn 3 hvis umiddelbar dyrking er nødvendig.
3. Ved umiddelbar dyrking tiner du hetteglasset raskt ved å senke det ned i et 37°C varmt vannbad med rent vann og et antimikrobielt middel, og røre forsiktig i 40-60 sekunder til det blir en liten isklump igjen.
4. Utfør alle påfølgende trinn under sterile forhold i en strømningshette, og desinfiser kryoflasken med 70 % etanol før du åpner den.
5. Åpne det desinfiserte hetteglasset forsiktig, og overfør cellesuspensjonen til et 15 ml sentrifugerør som inneholder 8 ml romtemperert dyrkingsmedium, og bland forsiktig.
6. Sentrifuger blandingen ved $300 \times g$ i 3 minutter for å separere cellene, og kast supernatanten som inneholder rester av frysemedium, forsiktig.
7. Resuspender cellepelletten forsiktig i 10 ml nytt dyrkningsmedium. For adherente celler, del suspensjonen mellom to T25-kulturkolber; for suspensjonskulturer, overfør alt mediet til én T25-kolbe for å fremme effektiv celleinteraksjon og vekst.
8. Følg etablerte subkulturprotokoller for fortsatt vekst og vedlikehold av cellelinjen, noe som sikrer pålitelige eksperimentelle resultater.

Incubation Atmosphere

37°C , 5 % CO_2 , befuktet atmosfære.

Shipping Conditions

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca. -78°C under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

Storage Conditions

For langtidsoppbevaring plasseres hetteglassene i flytende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196°C . Lagring ved -80°C er kun akseptabelt som et kort mellomtrinn før overføring til flytende nitrogen.

Kvalitetskontroll og molekylær analyse

DT40-celler | 305249

Sterility

Mykoplasma-kontaminering utelukkes ved hjelp av både PCR-baserte analyser og luminescensbaserte metoder for påvisning av mykoplasma.

For å sikre at det ikke finnes bakterie-, sopp- eller gjærkontaminering, blir cellekulturene inspisert visuelt hver dag.