

DF-1-celler | 305016

Generell informasjon

Description

DF-1-celler er en kontinuerlig cellelinje avledet fra embryonale fibroblaster fra kylling, nærmere bestemt fra East Lansing Line (ELL-0)-kyllinger. Cellelinjen er kjent for sin mangel på endogent aviært leukosevirus, som er en vanlig forurensning i mange andre kyllingcellelinjer. Denne egenskapen gjør DF-1-celler spesielt verdifulle for virologisk forskning, særlig i studier som involverer formering og genetisk manipulering av virus som infiserer fugler, for eksempel fugleinfluenza og Mareks sykdom-virus.

I tillegg til virologisk forskning brukes DF-1-celler også innen ulike områder av celle- og molekylærbiologisk forskning. De har en robust veksthastighet og en fibroblastlignende morfologi, noe som gjør dem egnet for in vitro-eksperimenter som krever et stabilt aviært cellemiljø. Disse cellene har vært viktige i studier av genuttrykk, særlig når det gjelder effekten av virus og andre genetiske elementer hos fuglearter. Den genetiske stabiliteten og mottakeligheten for transfeksjon gjør også DF-1 til en utmerket modell for å studere genfunksjon og -regulering i et kontrollert miljø.

Organism

Kylling

Tissue

Embryo

Synonyms

DF1, UMNSAH-DF-1, UMNSAH-DF 1, UMNSAH-DF1, UMNSAH/DF1, UMNSAH/DF#1, Douglas Foster-1, UMNSAH/DF-1

Kjennetegn

Age

10 dager svangerskap

Morphology

Fibroblast

Growth properties

Vedhengende

Regulatoriske data

Citation

DF-1 (Cytion-katalognummer 305016)

Biosafety level

1

NCBI_TaxID

9031

CellosaurusAccession

CVCL_0570

DF-1-celler | 305016

Biomolekylære data

Tumorigenic	Nei
--------------------	-----

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	Suppler mediet med 10 % FBS
--------------------	-----------------------------

Dissociation Reagent	Accutase
-----------------------------	----------

Subculturing	Fjern det gamle mediet fra de adherente cellene, og vask dem med PBS uten kalsium og magnesium. Bruk 3-5 ml PBS for T25-kolber og 5-10 ml for T75-kolber. Dekk deretter cellene helt med Accutase, med 1-2 ml for T25-kolber og 2,5 ml for T75-kolber. La cellene inkubere i romtemperatur i 8-10 minutter for å løsne dem. Etter inkubasjon blandes cellene forsiktig med 10 ml medium for å resuspendere dem, og sentrifuger deretter ved 300xg i 3 minutter. Kast supernatanten, resuspendere cellene i nytt medium, og overfør dem til nye kolber som allerede inneholder nytt medium.
---------------------	--

Split ratio	1:2 til 1:4
--------------------	-------------

Fluid renewal	2 til 3 ganger per uke
----------------------	------------------------

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 osmoprotective midler og metabolske stabilisatorer for å øke utvinningen og redusere kryoinduisert stress.
----------------------	---

DF-1-celler | 305016

Thawing and Culturing Cells

1. Kontroller at hetteglasset er dypfrysst 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 $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ 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 $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ 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 cellepelleten forsiktig i 10 ml nytt dyrkingsmedium. 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

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5 % CO_2 , befuktet atmosfære.

Flask Coating

Ingen

Freezing Procedure

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

Shipping Conditions

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

DF-1-celler | 305016

**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 / Genetisk profil / HLA

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.