

Komórki DT40 | 305249

Informacje ogólne

Description

Linia komórkowa DT40 pochodzi od kurczaka (*Gallus gallus*) i jest głównie wykorzystywana jako model do badania biologii komórek B i immunologii. Pochodzące z chłoniaka kaletki wywołanego wirusem białaczki ptaków, komórki DT40 są unikalne ze względu na wysoki wskaźnik rekombinacji homologicznej, co czyni je szczególnie cennymi w badaniach nad celowaniem genów. Cecha ta pozwala na wydajne i precyzyjne modyfikacje genetyczne, ułatwiając badania w różnych dziedzinach, w tym naprawy DNA, dynamiki chromosomów i funkcji genów. Komórki DT40 wykazują szybki wzrost i stabilny kariotyp, które są korzystnymi cechami dla powtarzalności i spójności eksperymentalnej. Są one szeroko wykorzystywane do badania mechanizmów konwersji i dywersyfikacji genów immunoglobulin, przyczyniając się znacząco do naszego zrozumienia adaptacyjnego układu odpornościowego. Co więcej, komórki DT40 są wykorzystywane w badaniach farmakologicznych do przesiewania potencjalnych związków terapeutycznych i analizowania odpowiedzi komórkowej na uszkodzenia DNA. Oprócz zastosowań w immunologii i badaniach genetycznych, komórki DT40 odgrywają również kluczową rolę w badaniu komórkowych szlaków sygnałowych. Stanowią one solidny system do badania roli różnych białek i genów w transdukcji sygnału, apoptozie i regulacji cyklu komórkowego. Łatwość manipulacji genetycznych w komórkach DT40, w połączeniu z ich biologicznym znaczeniem, nadal czyni je kluczowym narzędziem w badaniach biomedycznych. Należy jednak pamiętać, że wyniki uzyskane w komórkach DT40 powinny zostać zweryfikowane w systemach ssaków ze względu na różnice gatunkowe.

Organism

Kurczak

Disease

Chłoniak kaletki maziowej

Synonyms

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

Charakterystyka

Breed/Subspecies

Hy-Line SC

Age

1 dzień

Gender

Kobieta

Morphology

Podobne do limfoblastów

Cell type

Komórka B

Growth properties

Zawieszenie

Dane regulacyjne

Komórki DT40 | 305249**Citation** DT40 (numer katalogowy Cytion 305249)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9031**CellosaurusAccession** CVCL_0249**Dane biomolekularne****Receptors expressed** Immunoglobulina M**Protein expression** Immunoglobulina M**Oncogenes** C-MYC**Tumorigenic** Tak, u kurcząt syngenicznych**Viruses** Transformant: Wirus białaczki ptaków (ALV)**Obsługa****Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/l glukozy, w: 4 mM L-glutaminy, w: 3,7 g/l NaHCO₃, w: 1,0 mM pirogronianu sodu (numer artykułu Cytion 820300a)**Supplements** Do pożywki należy dodać 10% FBS, 0,05 mM 2-merkaptoetanolu, 5% surowicy kurzej oraz 10% bulionu fosforanowo-tryptozowego → 2-merkaptoetanol zachowuje stabilność w pożywce jedynie przez 2–3 dni, a w temperaturze 37°C – przez 24 godziny; należy chronić przed światłem**Dissociation Reagent** Brak**Subculturing** Zawiesina komórek: Usunąć komórki z podłoża przez pipetowanie ze świeżą pożywką. Aby uzyskać pojedyncze komórki, przepuścić zawiesinę kilka razy przez igłę o rozmiarze 22 i dozować do nowych kolb.**Seeding density** od 2 do 4 × 10⁵ komórek/ml

Komórki DT40 | 305249

Freeze medium

Jako pożywki do kriokonserwacji używamy kompletnej pożywki wzrostowej (w tym FBS) + 10% DMSO w celu zapewnienia odpowiedniej żywotności po rozmrożeniu lub CM-1 (numer katalogowy Cytion 800100), która zawiera zoptymalizowane osmoprotektanty i stabilizatory metaboliczne w celu zwiększenia regeneracji i zmniejszenia stresu wywołanego kriokonserwacją.

Thawing and Culturing Cells

1. Upewnij się, że fiolka pozostaje głęboko zamrożona w momencie dostawy, ponieważ komórki są wysyłane w suchym lodzie, aby utrzymać optymalną temperaturę podczas transportu.
2. Po otrzymaniu należy natychmiast przechowywać fiolkę w temperaturze poniżej -150°C , aby zapewnić zachowanie integralności komórek, lub przejść do kroku 3, jeśli wymagana jest natychmiastowa hodowla.
3. W przypadku natychmiastowej hodowli należy szybko rozmrozić fiolkę, zanurzając ją w łaźni wodnej o temperaturze 37°C z czystą wodą i środkiem przeciwdrobnoustrojowym, delikatnie mieszając przez 40-60 sekund, aż pozostanie niewielka grudka lodu.
4. Wykonaj wszystkie kolejne kroki w sterylnych warunkach w kapturze przepływowej, dezynfekując fiolkę 70% etanolem przed otwarciem.
5. Ostrożnie otworzyć zdezynfekowaną fiolkę i przenieść zawiesinę komórek do 15 ml probówki wirówkowej zawierającej 8 ml podłoża hodowlanego o temperaturze pokojowej, delikatnie mieszając.
6. Wirować mieszaninę z prędkością $300 \times g$ przez 3 minuty w celu oddzielenia komórek i ostrożnie odrzucić supernatant zawierający pozostałości pożywki do zamrażania.
7. Delikatnie ponownie zawiesić osad komórek w 10 ml świeżego podłoża hodowlanego. W przypadku komórek przylegających, rozdzielić zawiesinę pomiędzy dwie kolby hodowlane T25; w przypadku hodowli zawiesinowych, przenieść całą pożywkę do jednej kolby T25 w celu promowania skutecznej interakcji i wzrostu komórek.
8. Przestrzegaj ustalonych protokołów podhodowli w celu ciągłego wzrostu i utrzymania linii komórkowej, zapewniając wiarygodne wyniki eksperymentów.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , nawilżona atmosfera.

Shipping Conditions

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Komórki DT40 | 305249

Storage Conditions

W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiołki w ciekłym azocie w fazie lotnej w temperaturze od -150 do -196 °C. Przechowywanie w temperaturze -80 °C jest dopuszczalne tylko jako krótki etap przejściowy przed przeniesieniem do ciekłego azotu.

Kontrola jakości i analiza molekularna

Sterility

Zanieczyszczenie mykoplazmą jest wykluczane przy użyciu zarówno testów opartych na PCR, jak i metod wykrywania mykoplazmy opartych na luminescencji.

Aby upewnić się, że nie ma zanieczyszczenia bakteriami, grzybami lub drożdżami, hodowle komórkowe są poddawane codziennym kontrolom wizualnym.