

Клітини DT40 | 305249

Загальна інформація

Description

Клітинна лінія DT40 походить від курки (*Gallus gallus*) і використовується переважно як модель для вивчення біології В-клітин та імунології. Клітини DT40, що походять від лімфоми бурси, індукованої вірусом лейкозу птахів, є унікальними завдяки високій швидкості гомологічної рекомбінації, що робить їх особливо цінними для досліджень з цільового введення генів. Ця характеристика дозволяє здійснювати ефективні та точні генетичні модифікації, сприяючи дослідженням у різних галузях, зокрема у сфері репарації ДНК, динаміки хромосом та функції генів. Клітини DT40 характеризуються швидким ростом та стабільним каріотипом, що є перевагами для відтворюваності та послідовності експериментів. Їх широко використовують для вивчення механізмів конверсії та диверсифікації генів імуноглобулінів, що суттєво сприяє нашому розумінню адаптивної імунної системи. Крім того, клітини DT40 застосовують у фармакологічних дослідженнях для скринінгу потенційних терапевтичних сполук та аналізу клітинних реакцій на пошкодження ДНК. Окрім застосування в імунології та генетичних дослідженнях, клітини DT40 також відіграють важливу роль у вивченні клітинних сигнальних шляхів. Вони забезпечують надійну систему для аналізу ролі різних білків і генів у передачі сигналів, апоптозі та регуляції клітинного циклу. Легкість генетичної маніпуляції з клітинами DT40 у поєднанні з їх біологічною значущістю продовжує робити їх важливим інструментом у біомедичних дослідженнях. Однак важливо зазначити, що результати досліджень на клітинах DT40 повинні бути підтверджені на системах ссавців через видоспецифічні відмінності.

Organism

Курка

Disease

Лімфома бурси курки

Synonyms

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

Характеристики

Breed/Subspecies

Hy-Line SC

Age

1 день

Gender

Жінка

Morphology

Лімфобластоподібні

Cell type

В-клітина

Growth properties

Підвіска

Нормативні дані

Клітини DT40 | 305249

Citation	DT40 (номер у каталозі Cytion 305249)
----------	---------------------------------------

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

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

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

Біомолекулярні дані

Receptors expressed	Імуноглобулін М
---------------------	-----------------

Protein expression	Імуноглобулін М
--------------------	-----------------

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

Tumorigenic	Так, у сингенних курей
-------------	------------------------

Viruses	Трансформант: вірус лейкозу птахів (ALV)
---------	--

Обробка

Culture Medium	ДМЕМ, w: 4,5 г/л Глюкоза, w: 4 мМ L-глутамін, w: 3,7 г/л NaHCO ₃ , w: 1,0 мМ піруват натрію (цит. номер 820300a)
----------------	---

Supplements	Додайте до середовища 10 % FBS, 0,05 мМ 2-меркаптоетанолу, 5 % курячої сироватки, 10 % триптозо-фосфатного бульйону → 2-меркаптоетанол зберігає стабільність у середовищі лише 2–3 дні та 24 години при 37 °C — захищати від світла
-------------	---

Dissociation Reagent	Ні
----------------------	----

Subculturing	Суспензія клітин: Видалить клітини з субстрату піпетуванням у свіже середовище. Щоб отримати окремі клітини, кілька разів пропустіть суспензію через голку 22 калібру і розлийте в нові колби.
--------------	--

Seeding density	від 2 до 4 × 10 ⁵ клітин/мл
-----------------	--

Клітини DT40 | 305249

Freeze medium

Як середовище кріоконсервування ми використовуємо повне живильне середовище (включаючи FBS) + 10% ДМСО для адекватної життєздатності після відтавання або СМ-1 (номер за каталогом Cytion 800100), до складу якого входять оптимізовані осмопротектори та метаболічні стабілізатори для прискорення відновлення та зменшення кріоіндукованого стресу.

Thawing and Culturing Cells

1. Переконайтеся, що віал залишається глибоко замороженим після доставки, оскільки клітини транспортуються на сухому льоду для підтримання оптимальної температури під час транспортування.
2. Після отримання негайно зберігайте кріовіал при температурі нижче -150°C , щоб забезпечити збереження клітинної цілісності, або перейдіть до кроку 3, якщо потрібне негайне культивування.
3. Для негайного культивування швидко розморозьте віал, зануливши його у водяну баню з чистою водою і антимікробним засобом при температурі 37°C , обережно перемішуючи протягом 40-60 секунд, поки не залишиться невелика крижана грудка.
4. Всі наступні кроки виконуйте в стерильних умовах у проточній витяжній шафі, дезінфікуючи кріовіал 70% етанолом перед відкриттям.
5. Обережно відкрийте продезінфікований флакон і перенесіть клітинну суспензію в 15 мл центрифужну пробірку, що містить 8 мл культурального середовища кімнатної температури, обережно перемішуючи.
6. Відцентрифугуйте суміш при $300 \times g$ протягом 3 хвилин, щоб відокремити клітини, і обережно викиньте надосадову рідину, що містить залишки заморожувального середовища.
7. Обережно ресуспендуйте осад клітин у 10 мл свіжого культурального середовища. Для адгезивних клітин розділіть суспензію між двома культуральними колбами T25; для суспензійних культур перенесіть все середовище в одну колбу T25, щоб сприяти ефективній взаємодії та росту клітин.
8. Дотримуйтесь встановлених протоколів субкультивування для продовження росту і підтримання клітинної лінії, забезпечуючи надійні результати експерименту.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , волога атмосфера.

Shipping Conditions

Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевірній ізольованій упаковці з достатньою кількістю холодоагенту для підтримання температури приблизно -78°C під час транспортування. При отриманні негайно огляньте контейнер і без зволікань перемістіть флакони у відповідне місце зберігання.

Клітини DT40 | 305249

Storage Conditions

Для тривалого зберігання помістіть флакони в парофазний рідкий азот при температурі від -150 до -196 °C. Зберігання при -80 °C допустиме лише як короткий проміжний етап перед перенесенням у рідкий азот.

Контроль якості та молекулярний аналіз

Sterility

Зараження мікоплазмою виключається за допомогою аналізів на основі ПЛР та люмінесцентних методів виявлення мікоплазми.

Щоб переконатися у відсутності бактеріального, грибового або дріжджового забруднення, клітинні культури піддаються щоденному візуальному контролю.