

Клетките на KC | 300604

Обща информация

Description

КС (Kc167) е ембрионална клетъчна линия на *Drosophila melanogaster*, получена от женски ембрион в стадий на дорзално затваряне. Линията е създадена първоначално и се използва широко в клетъчната биология на *Drosophila*, генетичните скрининги и функционалната геномика. Клетките Kc167 са иммортиализирани с SV40 и растат полуадхезивно, образувайки смесена популация от прикрепени и свободно плаващи клетки. Те са сред най-добре характеризираните клетъчни линии на *Drosophila* и са напълно подходящи за генетично заглушаване, медирано от RNAi, което ги превръща в основен модел за скрининг с RNAi в целия геном в биологията на безгръбначните.

Клетките КС намират приложение в клетъчната биология на *Drosophila*, скрининги с RNAi и CRISPR в целия геном, изследвания на пътищата за сигнална трансдукция (Wnt/Wingless, Hedgehog, Notch, JAK/STAT, Toll/NF-κB), изследвания на вродения имунитет и сравнителни изследвания на еволюционно консервирани пътища. Напълно секвенираният и анотиран геном на *Drosophila*, в съчетание с обширните публични бази данни за RNAi реагенти (например DRSC/TRiP), прави КС-клетките особено мощно средство за безпристрастно функционално геномно откритие. Прилага се класификация BSL-2 поради иммортиализацията с SV40.

Organism

Drosophila melanogaster (плодова муха)

Tissue

Ембрион

Disease

Нормален

Metastatic site

Ембрион (стадий на затваряне на гърба)

Applications

Клетъчна биология на *Drosophila*; скрининг чрез RNAi на ниво геном; скрининг чрез CRISPR; сигнална трансдукция (Wnt/Wingless, Hedgehog, Notch, JAK/STAT, Toll/NF-κB); вроден имунитет; функционална геномика на безгръбначните

Synonyms

К.С., К.С.

Характеристики

Age

Етап на затваряне на гръбната част

Gender

Жена

Morphology

Полуадхезивен, подобен на епител

Cell type

Ембрионални клетки

Клетките на KC | 300604

Growth properties

полуприлепващ

Регулаторни данни

Citation

KC (каталожен номер на Cytion 300604)

Biosafety level

2

NCBI_TaxID

7227

CellosaurusAccession

CVCL_Z833

GMO Status

GMO-S2: Тази клетъчна линия от *Drosophila* съдържа стабилно интегрирана касета за безсмъртност SV40. Необходимо е спазване на нивото на биологична безопасност BSL-2. Тази класификация важи само на територията на Германия и може да се различава в други държави.

Биомолекулярни данни

Virus susceptibility

SV40 – безсмъртен

Работа с

Culture Medium

Среда на Шнайдер за *Drosophila* + 2 mM глутамин + 10% фетално телешко серум (FBS).

Supplements

Добавете към средата 2 mM глутамин и 10% FBS

Dissociation Reagent

Не се изисква (полуадхезивно; разбъркайте внимателно)

Doubling time

приблизително 24 до 48 часа

Subculturing

Внимателно прехвърлете културата с пипета, за да ресуспендирате полуадхезивните клетки. Прехвърлете подходящ обем в нова колба и добавете прясна, предварително затоплена среда на Шнайдер. Разрежете до плътност от 5×10^5 до 1×10^6 клетки/мл. Инкубирайте при 25 °C на стайна температура без CO₂.

Split ratio

от 1 до 3

Клетките на KC | 300604

Seeding density от 5×10^5 до 1×10^6 клетки/мл

Fluid renewal На всеки 2 до 3 дни

Freeze medium Като среда за криоконсервация използваме пълна среда за растеж (включително FBS) + 10% DMSO за адекватна жизнеспособност след размразяване или CM-1 (каталожен номер 800100 на Cytion), която включва оптимизирани осмопротектори и метаболитни стабилизатори за подобряване на възстановяването и намаляване на криоиндуцирания стрес.

Thawing and Culturing Cells

1. Уверете се, че флаконът остава дълбоко замразен при доставката, тъй като клетките се транспортират със сух лед, за да се поддържат оптимални температури по време на транспортирането.
2. При получаване съхранявайте незабавно криовиолата при температури под -150°C , за да осигурите запазване на клетъчната цялост, или преминете към стъпка 3, ако е необходимо незабавно култивиране.
3. За незабавно култивиране бързо размразете флакона, като го потопите във водна баня с чиста вода и антимикробен агент с температура 37°C , като разбърквате внимателно в продължение на 40-60 секунди, докато остане малка ледена бучка.
4. Извършвайте всички следващи стъпки при стерилни условия в аспиратор, като преди отваряне дезинфекцирате криовиолата със 70% етанол.
5. Внимателно отворете дезинфекцирания флакон и прехвърлете клетъчната суспензия в 15 ml центрофужна епруветка, съдържаща 8 ml хранителна среда със стайна температура, като разбърквате внимателно.
6. Центрофугирайте сместа при $300 \times g$ в продължение на 3 минути, за да отделите клетките, и внимателно изхвърлете супернатантата, съдържаща остатъчна замразяваща среда.
7. Внимателно ресуспендирайте клетъчната пелета в 10 ml прясна хранителна среда. За адхезивни клетки разделете суспензията между две колби T25; за суспензионни култури прехвърлете цялата среда в една колба T25, за да стимулирате ефективното взаимодействие и растеж на клетките.
8. Придържайте се към установените протоколи за субкултивиране за непрекъснат растеж и поддържане на клетъчната линия, като гарантирате надеждни експериментални резултати.

Incubation Atmosphere 25°C , околен въздух (не се изисква CO_2).

Клетките на KC | 300604

Shipping Conditions

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед в утвърдени, изолирани опаковки с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително -78°C по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

Storage Conditions

За дълготрайно съхранение поставете флаконите в течен азот в парна фаза при температура около -150 до -196°C . Съхранението при -80°C е приемливо само като кратък междинен етап преди прехвърлянето в течен азот.

Контрол на качеството и молекулярен анализ