Product sheet

Клетките на KC | 300604

Обща информация

Description	KC (Kc167) е ембрионална клетъчна линия на Drosophila melanogaster, получена от женски ембрион в стадий на дорзално затваряне, регистрирана в Cellosaurus под номер CVCL_Z833. Линията е създадена първоначално и се използва широко в клетъчната биология на Drosophila, генетичните скрининги и функционалната геномика. Клетките Kc167 са имортализирани 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, медиирано от RNAi, което ги превръща в основен модел за скрининг с RNAi в целия геном в биологията на безгръбначните. Клетките KC 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 KC-клетките особено мощно средство за безпристрастно функционално геномно откритие. Прилага се класификация BSL-2 поради имортализацията с SV40. Клетките KC се култивират в среда на Шнайдер за Drosophila, допълнена с 2 mM глутамин и 10% FBS. Важно е да се отбележи, че клетъчните линии на Drosophila се култивират при **25 °C в атмосферен въздух без CO_2** (а не при 37 °C / 5% CO_2, както при клетките на бозайници). Клетките се пресаждат чрез леко ресуспендиране и разреждане (полуадхезивен растеж). Средата се подменя или клетките се разреждат на всеки 2–3 дни.
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	K.C., K.C.

Характеристики

Age	Етап на затваряне на гръбната част
Gender	Жена

Клетките на KC | 300604

Morphology	Полуадхезивен, подобен на епител
Cell type	Ембрионални клетки
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 (полуприлепващо; 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. Разредете до плътност от 5×10^5 до 1×10^6 клетки/мл. Инкубирайте при 25 °C на въздух без CO_2.

Клетките на KC | 300604

Split ratio	от 1 до 3
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 или 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 разбъркате внимателно.

6. Центрофугирайте сместа при 300 x 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.

Клетките на КС | 300604

Incubation Atmosphere	25 °C, околен въздух (не се изисква CO_2).
Shipping Conditions	Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка 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