

KC buňky | 300604

Obecné informace

Description

KC (Kc167) je embryonální buněčná linie *Drosophila melanogaster* odvozená z samičího embrya ve stadiu dorzálního uzavření. Tato linie byla původně založena a je široce využívána v buněčné biologii *Drosophila*, při genetických screeninzích a ve funkční genomice. Buňky Kc167 byly immortalizovány pomocí SV40 a rostou poloadhezivně, přičemž tvoří smíšenou populaci přilnutých a volně plovoucích buněk. Patří mezi nejlépe charakterizované buněčné linie *Drosophila* a jsou plně vhodné pro potlačení genů zprostředkované RNAi, což z nich činí základní model pro celogenomové screeniny RNAi v biologii bezobratlých.

Buňky KC jsou použitelné v buněčné biologii *Drosophila*, při genomových skríníngech pomocí RNAi a CRISPR, ve studiích signálních transdukčních drah (Wnt/Wingless, Hedgehog, Notch, JAK/STAT, Toll/NF- κ B), ve výzkumu vrozené imunity a v komparativních studiích evolučně konzervovaných drah. Díky plně sekvenovanému a anotovanému genomu *Drosophila* v kombinaci s rozsáhlými veřejnými databázemi reagentů pro RNAi (např. DRSC/TRIP) jsou buňky KC obzvláště účinné pro nestranné objevy v oblasti funkční genomiky. Vzhledem k immortalizaci virem SV40 se na ně vztahuje klasifikace BSL-2.

Organism

Drosophila melanogaster (ovocná muška)

Tissue

Embrya

Disease

Normální

Metastatic site

Embryo (stadium uzavření hřbetní štěrby)

Applications

Buněčná biologie *Drosophila*; celogenomové screeniny pomocí RNAi; screeniny pomocí CRISPR; signální transdukce (Wnt/Wingless, Hedgehog, Notch, JAK/STAT, Toll/NF- κ B); vrozená imunita; funkční genomika bezobratlých

Synonyms

KC, K C

Charakteristika

Age

Fáze uzavření hřbetní části

Gender

Ženy

Morphology

Částečně adhezivní, epitelální typu

Cell type

Embryonální buňky

Growth properties

částečně přilnavý

KC buňky | 300604

Regulační údaje

Citation	KC (katalogové číslo Cytion 300604)
Biosafety level	2
NCBI_TaxID	7227
CellosaurusAccession	CVCL_Z833
GMO Status	GMO-S2: Tato buněčná linie Drosophila obsahuje stabilně integrovanou imortalizační kazetu SV40. Je vyžadováno bezpečnostní opatření BSL-2. Toto zařazení platí pouze v Německu a v jiných zemích se může lišit.

Biomolekulární data

Virus susceptibility	SV40 – virus způsobující nesmrteľnost buněk
----------------------	---

Zpracování

Culture Medium	Schneiderovo médium pro Drosophila + 2 mM glutamin + 10 % fetálního bovinního séra (FBS).
Supplements	Do živného média přidejte 2 mM glutaminu a 10 % FBS
Dissociation Reagent	Není nutné (částečně ulpívající; jemně resuspendujte)
Doubling time	přibližně 24 až 48 hodin
Subculturing	Jemně pipetujte kulturu, abyste resuspendovali částečně adhezivní buňky. Přemístěte odpovídající objem do nové baňky a přidejte čerstvé, předem zahřáté Schneiderovo médium. Naředte na hustotu 5×10^5 až 1×10^6 buněk/ml. Inkubujte při teplotě 25 °C na vzduchu bez CO ₂ .
Split ratio	1 až 3
Seeding density	5×10^5 až 1×10^6 buněk/ml
Fluid renewal	Každé 2 až 3 dny

KC buňky | 300604

Freeze medium

Jako kryokonzervační médium používáme kompletní růstové médium (včetně FBS) + 10 % DMSO pro zajištění dostatečné životaschopnosti po rozmrazení nebo CM-1 (katalogové číslo 800100 společnosti Cytion), které obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory pro zlepšení regenerace a snížení stresu způsobeného kryo.

Thawing and Culturing Cells

1. Ověřte si, že lahvička zůstane při dodání hluboce zmrazená, protože buňky se přepravují na suchém ledu, aby se během přepravy udržely optimální teploty.
2. Po obdržení kryovialku buď okamžitě uložte při teplotě nižší než -150 °C, abyste zajistili zachování buněčné integrity, nebo přejděte ke kroku 3, pokud je nutná okamžitá kultivace.
3. Pro okamžitou kultivaci rychle rozmrazte lahvičku ponořením do vodní lázně o teplotě 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálním prostředkem a jemně ji míchejte po dobu 40-60 sekund, dokud nezůstane malý ledový chuchvalec.
4. Všechny další kroky provádějte za sterilních podmínek v průtokové digestoři a před otevřením kryovialku dezinfikujte 70% ethanolem.
5. Opatrně otevřete dezinfikovanou lahvičku a přeneste buněčnou suspenzi do 15 ml centrifugační zkumavky obsahující 8 ml kultivačního média o pokojové teplotě a jemně promíchejte.
6. Směs odstředíte při 300 x g po dobu 3 minut, aby se buňky oddělily, a supernatant obsahující zbytky mrazicího média opatrně zlikvidujete.
7. Pelety buněk jemně resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačního média. U adherentních buněk rozdělíte suspenzi mezi dvě kultivační baňky T25; u suspenzních kultur přeneste veškeré médium do jedné baňky T25, abyste podpořili účinnou interakci a růst buněk.
8. Dodržujte zavedené subkultivační protokoly pro kontinuální růst a udržování buněčné linie, čímž zajistíte spolehlivé výsledky experimentů.

Incubation Atmosphere

25 °C, okolní vzduch (není třeba CO₂).

Shipping Conditions

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

KC buňky | 300604

Storage Conditions

Pro dlouhodobé uchování umístěte lahvičky do kapalného dusíku v plynné fázi při teplotě přibližně -150 až -196 °C. Skladování při -80 °C je přijatelné pouze jako krátký přechodný krok před přemístěním do kapalného dusíku.

Kontrola kvality a molekulární analýza