Product sheet

Κύτταρα KC | 300604

Γενικές πληροφορίες

Description	Η KC (Kc167) είναι μια εμβρυϊκή κυτταρική σειρά της Drosophila melanogaster που προέρχεται από θηλυκό έμβρυο στο στάδιο της ραχιαίας σύγκλεισης, καταχωρημένη στο Cellosaurus με τον κωδικό CVCL_Z833. Η σειρά δημιουργήθηκε αρχικά και έχει χρησιμοποιηθεί ευρέως στη κυτταρική βιολογία της Drosophila, σε γενετικές αναλύσεις και στη λειτουργική γονιδιωματική. Τα κύτταρα Kc167 έχουν αθανατοποιηθεί με τον ιό SV40 και αναπτύσσονται ημι-προσκολλητικά, σχηματίζοντας έναν μικτό πληθυσμό προσκολλημένων και ελεύθερα αιωρούμενων κυττάρων. Ανήκουν στις καλύτερα χαρακτηρισμένες κυτταρικές σειρές της Drosophila και είναι πλήρως ευνοϊκές για τη σίγηση γονιδίων που μεσολαβείται από RNAi, γεγονός που τις καθιστά ένα θεμελιώδες μοντέλο για διαγονιδιακές διαλογές RNAi στη βιολογία των ασπόνδυλων. Τα κύτταρα KC μπορούν να χρησιμοποιηθούν στη κυτταρική βιολογία της Drosophila, σε διαγονιδιακές διαλογές RNAi και CRISPR, σε μελέτες οδών μεταγωγής σήματος (Wnt/Wingless, Hedgehog, Notch, JAK/STAT, Toll/NF-κB), στην έρευνα της έμφυτης ανοσίας και σε συγκριτικές μελέτες εξελικτικά συντηρημένων οδών. Το πλήρως αλληλουχημένο και σχολιασμένο γονιδίωμα της Drosophila, σε συνδυασμό με εκτενείς δημόσιες βάσεις δεδομένων αντιδραστηρίων RNAi (π.χ., DRSC/TRiP), καθιστά τα κύτταρα KC ιδιαίτερα ισχυρά για την αμερόληπτη λειτουργική γονιδιωματική ανακάλυψη. Ισχύει η ταξινόμηση BSL-2 λόγω της αθανατοποίησης με SV40. Τα κύτταρα KC καλλιεργούνται σε μέσο Schneider για Drosophila, συμπληρωμένο με 2 mM γλουταμίνη και 10% FBS. Είναι σημαντικό να σημειωθεί ότι οι κυτταρικές σειρές Drosophila καλλιεργούνται στους **25 °C σε ατμοσφαιρικό αέρα χωρίς CO_2** (και όχι στους 37 °C / 5% CO_2, όπως συμβαίνει με τα κύτταρα θηλαστικών). Τα κύτταρα μεταφυτεύονται με ήπια επαναδιασπορά και αραίωση (ημι-προσκολλητική ανάπτυξη). Το μέσο ανανεώνεται ή τα κύτταρα αραιώνονται κάθε 2–3 ημέρες.
Organism	Drosophila melanogaster (Μύγα του φρούτου)
Tissue	Έμβρυο
Disease	Κανονικό
Metastatic site	Έμβρυο (στάδιο ραφής της ραχιαίας πλευράς)
Applications	Κυτταρική βιολογία της Drosophila· έρευνες RNAi σε επίπεδο γονιδιώματος· έρευνες CRISPR· μεταγωγή σήματος (Wnt/Wingless, Hedgehog, Notch, JAK/STAT, Toll/NF-κB)· έμφυτη ανοσία· λειτουργική γονιδιωματική των ασπόνδυλων
Synonyms	Κάνσας Σίτι, Κάνσας Σίτι

Χαρακτηριστικά

Age	Στάδιο κλεισίματος της ραχιαίας πλευράς
Gender	Γυναίκα

Κύτταρα KC | 300604

Morphology	Ημι-προσκολλητικό, επιθηλιακού τύπου
Cell type	Εμβρυϊκά κύτταρα
Growth properties	ημι-προσκολλητικός

Ρυθμιστικά δεδομένα

Citation	KC (αριθμός καταλόγου Cytion 300604)
Biosafety level	2
NCBI_TaxID	7227
CellosaurusAccession	CVCL_Z833
GMO Status	GMO-S2: Αυτή η κυτταρική σειρά Drosophila περιέχει μια σταθερά ενσωματωμένη κασέτα αθανατοποίησης SV40. Απαιτείται περιορισμός BSL-2. Η ταξινόμηση αυτή ισχύει μόνο στη Γερμανία και ενδέχεται να διαφέρει σε άλλες χώρες.

Βιομοριακά δεδομένα

Virus susceptibility	Αθανατοποιημένος SV40

Χειρισμός

Culture Medium	Μέσο Schneider για τη Drosophila + 2 mM γλουταμίνη + 10% εμβρυϊκό βοοειδές ορό (FBS).
Supplements	Προσθέστε στο μέσο 2 mM γλουταμίνη και 10% FBS
Dissociation Reagent	Δεν απαιτείται (ημι-συγκολλητικό· ανακατέψτε απαλά)
Doubling time	περίπου 24 έως 48 ώρες
Subculturing	Με προσοχή, αναδεύστε την καλλιέργεια με πιπέτα για να επαναδιαλύσετε τα ημι-προσκολλημένα κύτταρα. Μεταφέρετε τον κατάλληλο όγκο σε νέα φιάλη και προσθέστε φρέσκο, προθερμασμένο μέσο Schneider. Αραιώστε έως πυκνότητα 5×10^5 έως 1×10^6 κύτταρα/ml. Επωάστε στους 25 °C σε ατμοσφαιρικό αέρα χωρίς CO_2.

Κύτταρα KC | 300604

Split ratio	1 έως 3
Seeding density	5×10^5 έως 1×10^6 κύτταρα/ml
Fluid renewal	Κάθε 2 έως 3 ημέρες
Freeze medium	Ως μέσο κρυοσυντήρησης, χρησιμοποιούμε πλήρες μέσο ανάπτυξης (συμπεριλαμβανομένου του FBS) + 10% DMSO για επαρκή βιωσιμότητα μετά την απόψυξη, ή CM-1 (αριθμός καταλόγου Cytion 800100), το οποίο περιλαμβάνει βελτιστοποιημένα ωσμοπροστατευτικά και μεταβολικούς σταθεροποιητές για την ενίσχυση της ανάκαμψης και τη μείωση του στρες που προκαλείται από την κρυοσυντήρηση.

Thawing and Culturing Cells

1. Επιβεβαιώστε ότι το φιαλίδιο παραμένει βαθιά παγωμένο κατά την παράδοση, καθώς τα κύτταρα αποστέλλονται σε ξηρό πάγο για να διατηρούνται οι βέλτιστες θερμοκρασίες κατά τη μεταφορά.

2. Κατά την παραλαβή, είτε αποθηκεύστε το κρυοφιαλίδιο αμέσως σε θερμοκρασίες κάτω των -150°C για να διασφαλίσετε τη διατήρηση της κυτταρικής ακεραιότητας, είτε προχωρήστε στο βήμα 3 εάν απαιτείται άμεση καλλιέργεια.

3. Για άμεση καλλιέργεια, αποψύξτε γρήγορα το φιαλίδιο βυθίζοντάς το σε υδατόλουτρο 37°C με καθαρό νερό και αντιμικροβιακό παράγοντα, αναδεύοντας απαλά για 40-60 δευτερόλεπτα μέχρι να παραμείνει ένα μικρό σβόλο πάγου.

4. Εκτελέστε όλα τα επόμενα βήματα υπό αποστειρωμένες συνθήκες σε απορροφητήρα ροής, απολυμαίνοντας το κρυοφιαλίδιο με 70% αιθανόλη πριν από το άνοιγμα.

5. Ανοίξτε προσεκτικά το απολυμασμένο φιαλίδιο και μεταφέρετε το εναιώρημα των κυττάρων σε ένα σωληνάριο φυγοκέντρησης των 15 ml που περιέχει 8 ml θρεπτικού μέσου καλλιέργειας σε θερμοκρασία δωματίου, αναμειγνύοντας απαλά.

6. Φυγοκεντρίστε το μείγμα στα 300 x g για 3 λεπτά για να διαχωριστούν τα κύτταρα και απορρίψτε προσεκτικά το υπερκείμενο που περιέχει το υπόλοιπο μέσο κατάψυξης.

7. Επανασυσσωματώστε απαλά το κυτταρικό σφαιρίδιο σε 10 ml φρέσκου μέσου καλλιέργειας. Για προσκολλημένα κύτταρα, μοιράστε το εναιώρημα σε δύο φιάλες καλλιέργειας T25- για καλλιέργειες εναιωρήματος, μεταφέρετε όλο το μέσο σε μία φιάλη T25 για να προωθήσετε την αποτελεσματική αλληλεπίδραση και ανάπτυξη των κυττάρων.

8. Τηρείτε τα καθιερωμένα πρωτόκολλα υποκαλλιέργειας για τη συνεχή ανάπτυξη και διατήρηση της κυτταρικής σειράς, εξασφαλίζοντας αξιόπιστα πειραματικά αποτελέσματα.

Κύτταρα KC | 300604

Incubation Atmosphere	25 °C, ατμοσφαιρικός αέρας (δεν απαιτείται CO_2).
Shipping Conditions	Οι κρυοσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των -78 °C καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.
Storage Conditions	Για μακροχρόνια συντήρηση, τοποθετήστε τα φιαλίδια σε υγρό άζωτο σε φάση ατμών σε θερμοκρασία περίπου -150 έως -196 °C. Η αποθήκευση στους -80 °C είναι αποδεκτή μόνο ως σύντομο ενδιάμεσο βήμα πριν από τη μεταφορά σε υγρό άζωτο.

Έλεγχος ποιότητας και μοριακή ανάλυση