

KC-rakud | 300604

Üldine teave

Description

KC (Kc167) on *Drosophila melanogaster*'i embrüonaalne rakuliin, mis on saadud seljaosa sulgumisstaadiumis oleva emase embrüo rakkudest. See liin loodi algselt ja seda on laialdaselt kasutatud *Drosophila* rakubioloogias, geneetilistes sõelumistes ja funktsionaalses genoomikas. Kc167 rakud on SV40 abil immortaliseeritud ja kasvavad poolkinnitunult, moodustades segapopulatsiooni kinnitunud ja vabalt ujuvatest rakkudest. Need kuuluvad kõige paremini iseloomustatud *Drosophila* rakuliinide hulka ja alluvad täielikult RNAi-vahendatud geenide vaigistamisele, mis teeb neist selgrootute bioloogias genoomiüleste RNAi sõelumiste nurgakivimudeli.

KC-rakke saab kasutada *Drosophila* rakubioloogias, genoomiülestes RNAi- ja CRISPR-sõelumistes, signaaliülekanne radade uuringutes (Wnt/Wingless, Hedgehog, Notch, JAK/STAT, Toll/NF-κB), kaasasündinud immuunsuse uurimisel ning evolutsiooniliselt säilinud radade võrdlevates uuringutes. Täielikult sekveneeritud ja annotatsioonidega varustatud *Drosophila* genoom koos ulatuslike avalikult kättesaadavate RNAi-reaktiivide andmebaasidega (nt DRSC/TRiP) muudab KC-rakud eriti võimsaks vahendiks erapooletuks funktsionaalse genoomika avastuste tegemiseks. SV40-ga immortalisatsiooni tõttu kehtib BSL-2 klassifikatsioon.

Organism

Drosophila melanogaster (puuviljakärbes)

Tissue

Embrüo

Disease

Tavaline

Metastatic site

Embrüo (seljaosa sulgumise etapp)

Applications

Drosophila rakubioloogia; genoomiüleste RNAi-sõelumisi; CRISPR-sõelumisi; signaaliülekanne (Wnt/Wingless, Hedgehog, Notch, JAK/STAT, Toll/NF-κB); kaasasündinud immuunsust; selgrootute funktsionaalset genoomikat

Synonyms

KC, K C

Omadused

Age

Seljaosa sulgemise etapp

Gender

Naised

Morphology

Poolkinnitunud epiteelilaadne

Cell type

Embrüonaalsed rakud

Growth properties

poolkinnitav

KC-rakud | 300604

Regulatiivsed andmed

Citation	KC (Cytioni katalooginumber 300604)
Biosafety level	2
NCBI_TaxID	7227
CellosaurusAccession	CVCL_Z833
GMO Status	GMO-S2: See Drosophila rakuliin sisaldab stabiilselt integreeritud SV40-immortaliseerimiskassetti. Nõutav on BSL-2 ohutustaseme järgimine. See klassifikatsioon kehtib ainult Saksamaal ja võib mujal erineda.

Biomolekulaarsed andmed

Virus susceptibility	SV40-viirusega surematuks muudetud
----------------------	------------------------------------

Töötlemine

Culture Medium	Schneideri Drosophila kasvukeskkond + 2 mM glutamiin + 10% loote veise seerum (FBS).
Supplements	Lisage kasvukeskkonnale 2 mM glutamiini ja 10% FBS-i
Dissociation Reagent	Ei ole vajalik (poolkinnitunud; segage õrnalt uuesti lahustuma)
Doubling time	umbes 24–48 tundi
Subculturing	Pipeteerige kultuuri ettevaatlikult, et poolkinnitunud rakud uuesti suspendeerida. Kandke sobiv kogus uude kolbi ja lisage värsket, eelnevalt soojendatud Schneideri keskkonda. Lahjendage tiheduseni 5×10^5 kuni 1×10^6 rakku/ml. Inkubeerige 25 °C juures õhu käes ilma CO ₂ -ta.
Split ratio	1–3
Seeding density	5×10^5 kuni 1×10^6 rakku/ml
Fluid renewal	Iga 2 kuni 3 päeva tagant

KC-rakud | 300604

Freeze medium

Krüosäilitusvedelikusena kasutame täielikku kasvukeskkonda (sh FBS) + 10% DMSO, et tagada piisav elujõulisus pärast sulatamist, või CM-1 (Cytioni katalooginumber 800100), mis sisaldab optimeeritud osmoprotektante ja metaboolseid stabilisaatoreid, et parandada taastumist ja vähendada krüostressi.

Thawing and Culturing Cells

1. Veenduge, et viaal jääb tarnimisel sügavkülmutatud, sest rakud transporditakse kuiva jääga, et säilitada optimaalne temperatuur transpordi ajal.
2. Pärast kättesaamist säilitage krüoviaal kas kohe temperatuuril alla -150 °C, et tagada rakkude terviklikkuse säilimine, või jätkake sammuga 3, kui on vaja koheselt kultiveerida.
3. Kohese kultiveerimise korral sulatage viaali kiiresti, kastes selle 37 °C veevanni puhta vee ja antimikroobse ainega, segades seda õrnalt 40-60 sekundit, kuni alles jääb väike jääklomp.
4. Tehke kõik järgmised toimingud steriilsetes tingimustes vooluhoodis, desinfitseerides krüoviaal enne avamist 70% etanooliga.
5. Avage desinfitseeritud viaali ettevaatlikult ja viige rakususpensioon ettevaatlikult segades 15 ml tsentrifuugitorusse, mis sisaldab 8 ml toatemperatuuril olevat kasvukeskkonda.
6. Rakkude eraldamiseks tsentrifuugige segu 300 x g juures 3 minutit ja visake ülejäänud külmutusvedelikku sisaldav supernatant ettevaatlikult ära.
7. Resuspendeerige rakupellet ettevaatlikult 10 ml värskes kasvukeskkonnas. Adhereerivate rakkude puhul jagage suspensioon kahe T25 kultuurkolvi vahel; suspensioonikultuuride puhul kandke kogu söötme keskkond ühte T25 kolbi, et soodustada rakkude tõhusat koostoimet ja kasvu.
8. Järgige kehtestatud subkultuuriprotokolle rakuliini jätkuvaks kasvuks ja säilitamiseks, tagades usaldusväärsed katsetulemused.

Incubation Atmosphere

25 °C, ümbritsev õhk (CO₂-d ei ole vaja).

Shipping Conditions

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu -78 °C. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige viaalid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

Storage Conditions

Pikaajaliseks säilitamiseks asetage viaalid aurufaasis vedela lämmastikuga umbes -150 kuni -196 °C juures. Säilitamine temperatuuril -80 °C on vastuvõetav ainult lühikese vaheetapina enne vedela lämmastikuga üleviimist.

KC-rakud | 300604

Kvaliteedikontroll ja molekulaaranalüüs