

KC-solut | 300604

Yleisiä tietoja

Description

KC (Kc167) on *Drosophila melanogaster* -alkion solulinja, joka on peräisin selkäpuolen sulkeutumisvaiheessa olevasta naarasalkiosta. Linja perustettiin alun perin, ja sitä on käytetty laajalti *Drosophila*-solubiologiassa, geneettisissä seulonnoissa ja funktionaalisessa genomiikassa. Kc167-solut on immortalisoitu SV40-viruksella, ja ne kasvavat puolikiinnittyneinä muodostaen sekapopulaation, jossa on sekä kiinnittyneitä että löyhästi kelluvia soluja. Ne kuuluvat parhaiten karakterisoiuihin *Drosophila*-solulinjoihin ja soveltuvat erinomaisesti RNAi-välitteiseen geenien vaimentamiseen, mikä tekee niistä kulmakivimallin koko genomin kattaville RNAi-seulonnoille selkärangattomien biologiassa.

KC-soluja voidaan käyttää *Drosophila*-solubiologiassa, koko genomin kattavissa RNAi- ja CRISPR-seulonnoissa, signaalinsiirtoreittien tutkimuksissa (Wnt/Wingless, Hedgehog, Notch, JAK/STAT, Toll/NF- κ B), luontaisen immunitetin tutkimuksessa sekä evoluutiossa säilyneiden reittien vertailututkimuksissa. Täysin sekvensoitu ja annotoitu *Drosophila*-genomi yhdistettynä laajoihin julkisiin RNAi-reagenssien tietokantoihin (esim. DRSC/TRiP) tekee KC-soluista erityisen tehokkaita puolueettomaan funktionaalisen genomiikan tutkimukseen. SV40-immortalisoinnin vuoksi soluihin sovelletaan BSL-2-luokitusta.

Organism

Drosophila melanogaster (hedelmäkärpänen)

Tissue

Alkio

Disease

Normaali

Metastatic site

Alkio (selkäpuolen sulkeutumisvaihe)

Applications

Drosophila-solubiologia; koko genomin kattavat RNAi-seulonnat; CRISPR-seulonnat; signaalinsiirto (Wnt/Wingless, Hedgehog, Notch, JAK/STAT, Toll/NF- κ B); luontainen immuunivaste; selkärangattomien funktionaalinen genomiikka

Synonyms

KC, K C

Ominaisuudet

Age

Selkäpuolen sulkeutumisvaihe

Gender

Nainen

Morphology

Osittain kiinnittynyt, epiteelin kaltainen

Cell type

Alkion solut

Growth properties

osittain kiinnittynyt

KC-solut | 300604

Säätelytiedot

Citation	KC (Cytion-tuotenumero 300604)
Biosafety level	2
NCBI_TaxID	7227
CellosaurusAccession	CVCL_Z833
GMO Status	GMO-S2: Tämä Drosophila-solulinja sisältää vakaasti integroidun SV40-immortalisaatiokasetin. BSL-2-turvaluokitus vaaditaan. Tämä luokitus koskee ainoastaan Saksaa, ja se voi olla erilainen muissa maissa.

Biomolekyyli tiedot

Virus susceptibility	SV40:n ikuistaminen
----------------------	---------------------

Käsittely

Culture Medium	Schneiderin Drosophila-kasvatusliuos + 2 mM glutamiinia + 10 % sikiön naudan seerumia (FBS).
Supplements	Lisää elatusaineeseen 2 mM glutamiinia ja 10 % FBS:ää
Dissociation Reagent	Ei vaadita (puolikiinnittynyt; sekoita varovasti uudelleen)
Doubling time	noin 24–48 tuntia
Subculturing	Pipetoi viljelmää varovasti, jotta puolikiinnittyneet solut irtoavat. Siirrä sopiva tilavuus uuteen pulloon ja lisää tuoretta, esilämmitettyä Schneiderin elatusainetta. Laimenna tiheyteen $5 \times 10^5 - 1 \times 10^6$ solua/ml. Inkuboi 25 °C:ssa ilmakehän ilmassa ilman CO ₂ :ta.
Split ratio	1–3
Seeding density	$5 \times 10^5 - 1 \times 10^6$ solua/ml
Fluid renewal	2-3 päivän välein

KC-solut | 300604

Freeze medium

Kryosäilytysmediaa käytämme täydellistä kasvualustaa (mukaan lukien FBS) + 10 % DMSO:ta riittävän sulatuksen jälkeisen elinkelpoisuuden varmistamiseksi tai CM-1:tä (Cytionin luettelonumero 800100), joka sisältää optimoituja osmoprotektantteja ja metabolisia stabilisaattoreita, jotka parantavat elpymistä ja vähentävät kryosäilytyksen aiheuttamaa stressiä.

Thawing and Culturing Cells

1. Varmista, että injektiopullo pysyy syväjäädetytynä toimitettaessa, sillä solut kuljetetaan kuivajäässä, jotta optimaalinen lämpötila säilyy kuljetuksen aikana.
2. Vastaanotettaessa kryopullo joko säilytetään välittömästi alle -150 °C:n lämpötilassa solujen eheyden säilyttämiseksi tai edetään vaiheeseen 3, jos tarvitaan välitöntä viljelyä.
3. Välitöntä viljelyä varten sulata injektiopullo nopeasti upottamalla se 37 °C:n vesihauteeseen, jossa on puhdasta vettä ja mikrobilääkettä, ja sekoittamalla sitä varovasti 40-60 sekunnin ajan, kunnes jäätä on jäljellä pieni jäämöhkäle.
4. Suorita kaikki seuraavat vaiheet steriileissä olosuhteissa virtaushupussa ja desinfioi kryopullo 70-prosenttisella etanolilla ennen avaamista.
5. Avaa desinfioitu injektiopullo varovasti ja siirrä solususpensio 15 ml:n sentrifugiputkeen, joka sisältää 8 ml huoneenlämpöistä elatusainetta, varovasti sekoittaen.
6. Sentrifugoi seosta 300 x g:n voimakkuudella 3 minuutin ajan solujen erottamiseksi ja hävitä varovasti supernatantti, joka sisältää jäännöspakastusmediumia.
7. Suspendoidaan solupelletti varovasti uudelleen 10 ml:aan tuoretta elatusainetta. Jos solut ovat tarttuvia, jaa suspensio kahden T25-kolvin kesken; jos kyseessä ovat suspensioviljelmät, siirrä kaikki väliaine yhteen T25-kolviin solujen tehokkaan vuorovaikutuksen ja kasvun edistämiseksi.
8. Noudata vakiintuneita aliviljelyprotokollia solulinjan jatkuvan kasvun ja ylläpidon varmistamiseksi ja luotettavien kokeellisten tulosten varmistamiseksi.

Incubation Atmosphere

25 °C, ympäröivä ilma (ei vaadi CO₂:ta).

Shipping Conditions

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäässä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmääainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

KC-solut | 300604

**Storage
Conditions**

Pitkäaikaissäilytystä varten injektiopullot asetetaan höyryfaasissa olevaan nestemäiseen tyypeen noin -150 - -196 °C:een. Säilytys -80 °C:ssa on hyväksyttävää vain lyhyenä välivaiheena ennen siirtoa nestemäiseen tyypeen.

Laadunvalvonta ja molekyylianalyysi