

KC ląstelės | 300604

Bendra informacija

Description

KC (Kc167) – tai „Drosophila melanogaster“ embrioninė ląstelių linija, gauta iš patelės embriono, esant nugaros užsidarymo stadijai. Ši linija buvo sukurta anksčiau ir plačiai naudojama „Drosophila“ ląstelių biologijoje, genetiniuose tyrimuose bei funkcinėje genomikoje. Kc167 ląstelės buvo imortalizuotos naudojant SV40 ir auga pusiau adheziviai, sudarančios mišrią prisitvirtinusių ir laisvai plūduriuojančių ląstelių populiaciją. Jos yra vienos iš geriausiai apibūdintų „Drosophila“ ląstelių linijų ir puikiai tinka RNri tarpininkaujamam genų nutildymui, todėl yra pagrindinis modelis genomo masto RNri atrankoms bestuburių biologijoje.

KC ląstelės tinka naudoti „Drosophila“ ląstelių biologijoje, visą genomą apimančiuose RNAi ir CRISPR tyrimuose, signalų perdavimo kelių tyrimuose (Wnt/Wingless, Hedgehog, Notch, JAK/STAT, Toll/NF-κB), įgimto imuniteto tyrimuose ir evoliuciškai išlikusių kelių lyginamuosiuose tyrimuose. Visiškai sekvenuotas ir anotuotas „Drosophila“ genomas, kartu su išsamiomis viešomis RNAi reagentų duomenų bazėmis (pvz., DRSC/TRIP), daro KC ląsteles ypač galingą įrankį nešališkiems funkcinį genomų atradimams. Dėl SV40 imortalizacijos joms taikoma BSL-2 klasifikacija.

Organism Drosophila melanogaster (vaisinė musė)

Tissue Embrionas

Disease Normalus

Metastatic site Embrionas (nugaros užsidarymo stadija)

Applications „Drosophila“ ląstelių biologija; visą genomą apimantys RNri tyrimai; CRISPR tyrimai; signalų perdavimas (Wnt/Wingless, Hedgehog, Notch, JAK/STAT, Toll/NF-κB); įgimtas imunitetas; bestuburių funkcinė genomika

Synonyms KC, K C

Charakteristikos

Age Nugaros užsidarymo etapas

Gender Moteris

Morphology Pusiau prilipęs, epitelio tipo

Cell type Embrioninės ląstelės

Growth properties pusiau prilipantis

KC ląstelės | 300604

Reguliavimo duomenys

Citation	KC (Cytion katalogo numeris 300604)
Biosafety level	2
NCBI_TaxID	7227
CellosaurusAccession	CVCL_Z833
GMO Status	GMO-S2: Ši „Drosophila“ ląstelių linija turi stabiliai integruotą SV40 nemirtingumo kasetę. Būtina taikyti BSL-2 saugos lygį. Ši klasifikacija galioja tik Vokietijoje ir kitose šalyse gali skirtis.

Biomolekuliniai duomenys

Virus susceptibility	SV40, įgijęs nemirtingumą
----------------------	---------------------------

Tvarkymas

Culture Medium	Schneiderio Drosophila terpė + 2 mM glutaminas + 10 % veršelių serumo (FBS).
Supplements	Į terpę įpilkite 2 mM glutamino ir 10 % FBS
Dissociation Reagent	Nereikalinga (pusiau prilipusi; atsargiai išmaišykite)
Doubling time	maždaug nuo 24 iki 48 valandų
Subculturing	Švelniai pipetuokite kultūrą, kad vėl suspenduotumėte pusiau prilipusias ląsteles. Perkelkite reikiamą tūrį į naują kolbą ir įpilkite šviežios, iš anksto pašildytos Schneiderio terpės. Praskieskite iki tankio nuo 5×10^5 iki 1×10^6 ląstelių/ml. Inkubuokite 25 °C temperatūroje aplinkos ore be CO ₂ .
Split ratio	1–3
Seeding density	nuo 5×10^5 iki 1×10^6 ląstelių/ml
Fluid renewal	Kas 2-3 dienas

KC ląstelės | 300604

Freeze medium

Kaip kriokonservavimo terpę naudojame visišką augimo terpę (įskaitant FBS) + 10 % DMSO, kad būtų užtikrintas tinkamas gyvybingumas po atšildymo, arba CM-1 (Cytion katalogo numeris 800100), kurioje yra optimizuotų osmoprotektorių ir medžiagų apykaitos stabilizatorių, kad būtų pagerintas atsigavimas ir sumažintas kriokonservavimo sukeltas stresas.

Thawing and Culturing Cells

1. Patikrinkite, ar pristatant buteliuką jis išlieka gerai užšaldytas, nes ląstelės gabenamos ant sauso ledo, kad gabenimo metu būtų palaikoma optimali temperatūra.
2. Gavę iš karto laikykite kriovialą žemesnėje nei -150 °C temperatūroje, kad užtikrintumėte ląstelių vientisumo išsaugojimą, arba pereikite prie 3 veiksmo, jei reikia nedelsiant kultivuoti.
3. Jei norite nedelsiant pradėti kultivuoti, greitai atšildykite buteliuką panardindami jį į 37 °C temperatūros vandens vonelę su švariu vandeniu ir antimikrobine priemone, švelniai maišydami 40-60 sekundžių, kol liks nedidelis ledo gabalėlis.
4. Visus tolesnius veiksmus atlikite steriliomis sąlygomis srauto gaubte, prieš atidarydami kriovialą dezinfekuokite jį 70 % etanoliu.
5. Atsargiai atidarykite dezinfekuotą buteliuką ir perpilkite ląstelių suspensiją į 15 ml centrifugos mėgintuvėlį, kuriame yra 8 ml kambario temperatūros mitybinės terpės, atsargiai išmaišykite.
6. Mišinį centrifuguokite 300 x g greičiu 3 minutes, kad atsiskirtų ląstelės, ir atsargiai išmeskite supernatantą su šaldymo terpės likučiais.
7. Švelniai resuspenduokite ląstelių granules 10 ml šviežios mitybinės terpės. Jei ląstelės yra prigludusios, suspensiją padalykite į dvi T25 kolbas; jei tai suspensinės kultūros, visą terpę perkelkite į vieną T25 kolbą, kad paskatintumėte veiksmingą ląstelių sąveiką ir augimą.
8. Laikykitės nustatytų subkultūrų protokolų, kad ląstelių linija nuolat augtų ir būtų palaikoma, taip užtikrinant patikimus eksperimentų rezultatus.

Incubation Atmosphere

25 °C, aplinkos oro temperatūra (CO₂ nereikia).

Shipping Conditions

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug -78 °C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelkite mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

KC ląstelės | 300604

Storage Conditions

Norėdami ilgai saugoti, įdėkite buteliukus į garų fazės skystą azotą maždaug -150-196 °C temperatūroje.
Laikymas -80 °C temperatūroje yra priimtinas tik kaip trumpas tarpinis etapas prieš perkeliant į skystąjį azotą.

Kokybės kontrolė ir molekulinė analizė