

KC šūnas | 300604

Vispārīga informācija

Description

KC (Kc167) ir *Drosophila melanogaster* embrionālā šūnu līnija, kas iegūta no sieviešu dzimuma embrija dorsālās slēgšanās stadijā. Šī līnija sākotnēji tika izveidota un ir plaši izmantota *Drosophila* šūnu bioloģijā, ģenētiskajos skrīningos un funkcionālajā genomikā. Kc167 šūnas ir imortalizētas ar SV40 un aug daļēji adhezīvi, veidojot jauktu populāciju no piestiprinātām un brīvi peldošām šūnām. Tās ir vienas no vislabāk raksturotajām *Drosophila* šūnu līnijām un ir pilnībā piemērotas RNSi-mediētai gēnu klusināšanai, padarot tās par pamata modeli genomam plašiem RNSi skrīningiem bezmugurkaulnieku bioloģijā.

KC šūnas ir piemērotas *Drosophila* šūnu bioloģijā, genomā plaša mēroga RNAi un CRISPR skrīningos, signālu pārnese ceļu pētījumos (Wnt/Wingless, Hedgehog, Notch, JAK/STAT, Toll/NF-κB), iedzimtas imunitātes pētījumos un evolūcijas gaitā saglabājušos ceļu salīdzinošajos pētījumos. Pilnībā sekvenčētais un anotētais *Drosophila* genoms, apvienots ar plašām publiski pieejamām RNAi reaģentu datu bāzēm (piem., DRSC/TRiP), padara KC šūnas īpaši efektīvas objektīviem funkcionālās genomikas atklājumiem. Sakarā ar SV40 imortalizāciju tām piemēro BSL-2 klasifikāciju.

Organism

Drosophila melanogaster (augļu muša)

Tissue

Embrijs

Disease

Parasts

Metastatic site

Embrijs (mugurējās slēgšanās stadija)

Applications

Drosophila šūnu bioloģija; genomiska mēroga RNAi skrīningi; CRISPR skrīningi; signālu pārnese (Wnt/Wingless, Hedgehog, Notch, JAK/STAT, Toll/NF-κB); iedzimta imunitāte; bezmugurkaulnieku funkcionālā genomika

Synonyms

KC, K C

Raksturojums

Age

Mugurējās slēgšanās posms

Gender

Sievietes

Morphology

Daļēji piekļāvušs epitēlija tipa

Cell type

Embrionālās šūnas

Growth properties

daļēji piekļaujošs

KC šūnas | 300604

Normatīvie dati

Citation	KC (Cytion kataloga numurs 300604)
Biosafety level	2
NCBI_TaxID	7227
CellosaurusAccession	CVCL_Z833
GMO Status	GMO-S2: Šī Drosophila šūnu līnija satur stabili integrētu SV40 imortalizācijas kaseti. Nepieciešama BSL-2 drošības pakāpes ievērošana. Šī klasifikācija attiecas tikai uz Vāciju un citās valstīs var atšķirties.

Biomolekulārie dati

Virus susceptibility	SV40 ir iegūstis nemirstību
----------------------	-----------------------------

Darbs ar

Culture Medium	Šneidera Drosophila barotne + 2 mM glutamīns + 10 % teļa embriju serums (FBS).
Supplements	Papildiniet barotni ar 2 mM glutamīnu un 10 % FBS
Dissociation Reagent	Nav nepieciešams (daļēji pielipis; viegli atkārtoti suspendējiet)
Doubling time	aptuveni 24 līdz 48 stundas
Subculturing	Ar pipeti uzmanīgi pārlej kultūru, lai atkal suspendētu daļēji pieķāvušās šūnas. Pārlejiet atbilstošu tilpumu jaunā kolbā un pievienojiet svaigu, iepriekš uzsildītu Šneidera barotni. Atšķaidiet līdz blīvumam 5×10^5 līdz 1×10^6 šūnu/ml. Inkubējiet 25 °C temperatūrā gaisā bez CO ₂ .
Split ratio	no 1 līdz 3
Seeding density	no 5×10^5 līdz 1×10^6 šūnu/ml
Fluid renewal	Ik pēc 2 līdz 3 dienām

KC šūnas | 300604

Freeze medium

Kā kriokonservēšanas barotni mēs izmantojam pilnvērtīgu augšanas barotni (ieskaitot FBS) + 10 % DMSO, lai nodrošinātu pietiekamu dzīvotspēju pēc atkausēšanas, vai CM-1 (Cytion kataloga numurs 800100), kas ietver optimizētus osmoprotektorus un metaboliskos stabilizatorus, lai uzlabotu atveseļošanos un samazinātu krioinducēto stresu.

Thawing and Culturing Cells

1. Pārliecinieties, ka pēc piegādes flakons paliek dziļi sasaldēts, jo šūnas tiek sūtītas uz sausā ledus, lai pārvadāšanas laikā saglabātu optimālu temperatūru.
2. Pēc saņemšanas vai nu nekavējoties uzglabāt kriovialu temperatūrā, kas zemāka par -150 °C, lai nodrošinātu šūnu integritātes saglabāšanu, vai arī turpināt 3. posmu, ja nepieciešama tūlītēja kultivēšana.
3. Tūlītējas kultivēšanas gadījumā ātri atkausējiet flakonu, iegremdējot to 37°C ūdens vannā ar tīru ūdeni un antibakteriālu līdzekli, viegli maisot 40-60 sekundes, līdz paliek neliels ledus gabaliņš.
4. Visas turpmākās darbības veiciet sterilos apstākļos plūsmas nosūcējā, pirms atvēršanas dezinficējot kriovialu ar 70% etanolu.
5. Uzmanīgi atveriet dezinficēto flakonu un pārnēsiet šūnu suspensiju 15 ml centrifūgas mēģenē, kurā ir 8 ml istabas temperatūras barotnes, uzmanīgi samaisot.
6. Centrifugējiet maisījumu ar 300 x g 3 minūtes, lai atdalītu šūnas, un uzmanīgi izmetiet virskārtu, kas satur saldēšanas barotnes atlikumus.
7. Viegli resuspendēt šūnu granulas 10 ml svaigas barotnes. Adhēzijas šūnu gadījumā suspensiju sadalīt divās T25 kolbās; suspensijas kultūrām visu barotni pārnēsāt vienā T25 kolbā, lai veicinātu efektīvu šūnu mijiedarbību un augšanu.
8. Ievērojiet noteiktos subkultūru protokolus, lai nodrošinātu nepārtrauktu šūnu līnijas augšanu un uzturēšanu, tādējādi nodrošinot uzticamus eksperimentu rezultātus.

Incubation Atmosphere

25 °C, apkārtējā gaisa temperatūra (CO₂ nav nepieciešams).

Shipping Conditions

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidruma daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

KC šūnas | 300604

**Storage
Conditions**

Ilgstošai uzglabāšanai flakonus ievietojiet šķidrā slāpekļī ar tvaika fāzi aptuveni -150 līdz -196 °C temperatūrā. Uzglabāšana -80 °C temperatūrā ir pieļaujama tikai kā īss starpposms pirms pārvietošanas uz šķidro slāpekli.

Kvalitātes kontrole un molekulārā analīze