

Komórki KC | 300604

Informacje ogólne

Description

KC (Kc167) to linia komórek embrionalnych *Drosophila melanogaster* pochodząca z embrionu samicy w stadium zamknięcia grzbietu. Linia ta została pierwotnie wyhodowana i jest szeroko stosowana w biologii komórkowej *Drosophila*, badaniach genetycznych oraz genomice funkcjonalnej. Komórki Kc167 zostały uwiecznione za pomocą wirusa SV40 i rosną w sposób póładhezyjny, tworząc mieszaną populację komórek przylegających do podłoża oraz luźno unoszących się w hodowli. Należą one do najlepiej scharakteryzowanych linii komórkowych *Drosophila* i w pełni nadają się do wyciszania genów za pomocą RNAi, co czyni je podstawowym modelem do badań przesiewowych z wykorzystaniem RNAi w skali całego genomu w biologii bezkręgowców.

Komórki KC znajdują zastosowanie w biologii komórkowej *Drosophila*, badaniach przesiewowych z wykorzystaniem RNAi i CRISPR obejmujących cały genom, badaniach szlaków transdukcji sygnału (Wnt/Wingless, Hedgehog, Notch, JAK/STAT, Toll/NF- κ B), badaniach nad odpornością wrodzoną oraz badaniach porównawczych szlaków zachowanych w procesie ewolucji. W pełni zsekwencjonowany i opatrzony adnotacjami genom *Drosophila*, w połączeniu z obszernymi publicznymi bazami danych odczynników RNAi (np. DRSC/TRiP), sprawia, że komórki KC są szczególnie przydatne do obiektywnych odkryć w zakresie genomiki funkcjonalnej. Ze względu na unieśmiertelnienie wirusem SV40 komórki te podlegają klasyfikacji BSL-2.

Organism *Drosophila melanogaster* (muszka owocówka)

Tissue Zarodek

Disease Normalny

Metastatic site Zarodek (etap zamknięcia grzbietowego)

Applications Biologia komórkowa *Drosophila*; badania przesiewowe z wykorzystaniem RNAi obejmujące cały genom; badania przesiewowe z wykorzystaniem CRISPR; transdukcja sygnału (Wnt/Wingless, Hedgehog, Notch, JAK/STAT, Toll/NF- κ B); odporność wrodzona; genomika funkcjonalna bezkręgowców

Synonyms KC, K C

Charakterystyka

Age Etap zamykania grzbietowego

Gender Kobieta

Morphology Półprzylegający, podobny do nabłonka

Cell type Komórki embrionalne

Komórki KC | 300604

Growth properties

częściowo przylegający

Dane regulacyjne

Citation

KC (numer katalogowy Cytion 300604)

Biosafety level

2

NCBI_TaxID

7227

CellosaurusAccession

CVCL_Z833

GMO Status

GMO-S2: Ta linia komórkowa Drosophila zawiera stabilnie zintegrowaną kasetę nieśmiertelności wirusa SV40. Wymagane jest zabezpieczenie na poziomie BSL-2. Klasyfikacja ta obowiązuje wyłącznie na terenie Niemiec i może się różnić w innych krajach.

Dane biomolekularne

Virus susceptibility

SV40 uodporniony

Obsługa

Culture Medium

Pożywka Schneidera dla muszek owocówek + 2 mM glutaminy + 10% surowicy płodowej bydlęcej (FBS).

Supplements

Do pożywki należy dodać 2 mM glutaminy i 10% FBS

Dissociation Reagent

Nie jest wymagane (póładhezyjne; delikatnie zawiesić w roztworze)

Doubling time

ok. 24–48 godzin

Subculturing

Delikatnie pipetować hodowlę, aby ponownie zawiesić komórki półprzylegające. Przenieść odpowiednią objętość do nowej kolby i dodać świeżą, wstępnie podgrzaną pożywkę Schneidera. Rozcieńczyć do stężenia od 5×10^5 do 1×10^6 komórek/ml. Inkubować w temperaturze 25°C w powietrzu atmosferycznym bez CO₂.

Split ratio

od 1 do 3

Seeding density

od 5×10^5 do 1×10^6 komórek/ml

Komórki KC | 300604**Fluid renewal**

Co 2 do 3 dni

Freeze medium

Jako pożywki do kriokonserwacji używamy kompletnej pożywki wzrostowej (w tym FBS) + 10% DMSO w celu zapewnienia odpowiedniej żywotności po rozmrożeniu lub CM-1 (numer katalogowy Cytion 800100), która zawiera zoptymalizowane osmoprotektanty i stabilizatory metaboliczne w celu zwiększenia regeneracji i zmniejszenia stresu wywołanego kriokonserwacją.

Thawing and Culturing Cells

1. Upewnij się, że fiolka pozostaje głęboko zamrożona w momencie dostawy, ponieważ komórki są wysyłane w suchym lodzie, aby utrzymać optymalną temperaturę podczas transportu.
2. Po otrzymaniu należy natychmiast przechowywać fiolkę w temperaturze poniżej -150°C , aby zapewnić zachowanie integralności komórek, lub przejść do kroku 3, jeśli wymagana jest natychmiastowa hodowla.
3. W przypadku natychmiastowej hodowli należy szybko rozmrozić fiolkę, zanurzając ją w łaźni wodnej o temperaturze 37°C z czystą wodą i środkiem przeciwdrobnoustrojowym, delikatnie mieszając przez 40-60 sekund, aż pozostanie niewielka grudka lodu.
4. Wykonaj wszystkie kolejne kroki w sterylnych warunkach w kapturze przepływowej, dezynfekując fiolkę 70% etanolem przed otwarciem.
5. Ostrożnie otworzyć zdezynfekowaną fiolkę i przenieść zawiesinę komórek do 15 ml probówki wirówkowej zawierającej 8 ml podłoża hodowlanego o temperaturze pokojowej, delikatnie mieszając.
6. Wirować mieszaninę z prędkością $300 \times g$ przez 3 minuty w celu oddzielenia komórek i ostrożnie odrzucić supernatant zawierający pozostałości pożywki do zamrażania.
7. Delikatnie ponownie zawiesić osad komórek w 10 ml świeżego podłoża hodowlanego. W przypadku komórek przylegających, rozdzielić zawiesinę pomiędzy dwie kolby hodowlane T25; w przypadku hodowli zawiesinowych, przenieść całą pożywkę do jednej kolby T25 w celu promowania skutecznej interakcji i wzrostu komórek.
8. Przestrzegaj ustalonych protokołów podhodowli w celu ciągłego wzrostu i utrzymania linii komórkowej, zapewniając wiarygodne wyniki eksperymentów.

Incubation Atmosphere25°C, powietrze otoczenia (nie wymaga CO_2).

Komórki KC | 300604

Shipping Conditions

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiołki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Storage Conditions

W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiołki w ciekłym azocie w fazie lotnej w temperaturze od -150 do -196°C . Przechowywanie w temperaturze -80°C jest dopuszczalne tylko jako krótki etap przejściowy przed przeniesieniem do ciekłego azotu.

Kontrola jakości i analiza molekularna