

KC bunky | 300604

Všeobecné informácie

Description

KC (Kc167) je embryonálna bunková línia *Drosophila melanogaster* odvodená zo samčieho embrya vo štádiu dorzálneho uzatvorenia. Táto línia bola pôvodne založená a široko sa využíva v bunkovej biológii *Drosophila*, genetických skrínigoch a funkčnej genomike. Bunky Kc167 boli immortalizované vírusom SV40 a rastú poloadherenčne, pričom tvoria zmiešanú populáciu pripojených a voľne plávajúcich buniek. Patria medzi najlepšie charakterizované bunkové línie *Drosophila* a sú plne vhodné na génové umlčanie sprostredkované RNAi, čo z nich robí základný model pre celogenómové skrínigové RNAi v biológii bezstavovcov.

Bunky KC sa dajú využiť v bunkovej biológii *Drosophila*, pri celogenómových skrínigoch pomocou RNAi a CRISPR, pri štúdiách signálnych transdukčných dráh (Wnt/Wingless, Hedgehog, Notch, JAK/STAT, Toll/NF- κ B), vo výskume vrodenej imunity a v komparatívnych štúdiách evolučne konzervovaných dráh. Úplne sekvenovaný a anotovaný genóm *Drosophila* v kombinácii s rozsiahlymi verejnými databázami RNAi reagentov (napr. DRSC/TRiP) robí z buniek KC mimoriadne výkonný nástroj na objektívne funkčné genomické objavy. Vzhľadom na immortalizáciu vírusom SV40 sa na ne vzťahuje klasifikácia BSL-2.

Organism

Drosophila melanogaster (ovocná muška)

Tissue

Embryo

Disease

Normálne

Metastatic site

Embryo (štádium uzatvárania chrbtovej steny)

Applications

Bunka biológia *Drosophila*; celogenómové skrínigové pomocou RNAi; skrínigové pomocou CRISPR; signálna transdukcia (Wnt/Wingless, Hedgehog, Notch, JAK/STAT, Toll/NF- κ B); vrodenej imunity; funkčná genomika bezstavovcov

Synonyms

KC, K C

Charakteristika

Age

Fáza uzatvárania chrbtovej časti

Gender

Ženy

Morphology

Čiastočne priliehavý, epitelový typ

Cell type

Embryonálne bunky

Growth properties

čiastočne priliehavý

KC bunky | 300604

Regulačné údaje

Citation	KC (katalógové číslo Cytion 300604)
Biosafety level	2
NCBI_TaxID	7227
CellosaurusAccession	CVCL_Z833
GMO Status	GMO-S2: Táto bunková línia Drosophila obsahuje stabilne integrovanú imortalizačnú kazetu SV40. Je potrebné dodržiavať bezpečnostnú úroveň BSL-2. Toto zaradenie platí iba v Nemecku a v iných krajinách sa môže líšiť.

Biomolekulárne údaje

Virus susceptibility	SV40 – vírus spôsobujúci nesmrteľnosť
----------------------	---------------------------------------

Spracovanie

Culture Medium	Schneiderovo médium pre Drosophila + 2 mM glutamín + 10 % fetálneho bovinného séra (FBS).
Supplements	Do živného média pridajte 2 mM glutamínu a 10 % FBS
Dissociation Reagent	Nie je potrebné (čiastočne prilnuté; jemne resuspendujte)
Doubling time	približne 24 až 48 hodín
Subculturing	Jemne pipetujte kultúru, aby sa čiastočne adhezívne bunky opäť suspendovali. Preneste primeraný objem do novej fľaše a pridajte čerstvé, vopred zahriate Schneiderovo médium. Zriedte na hustotu 5×10^5 až 1×10^6 buniek/ml. Inkubujte pri teplote 25 °C na vzduchu bez CO ₂ .
Split ratio	1 až 3
Seeding density	5×10^5 až 1×10^6 buniek/ml
Fluid renewal	Každé 2 až 3 dni

KC bunky | 300604

Freeze medium

Ako kryokonzervačné médium používame kompletne rastové médium (vrátane FBS) + 10 % DMSO na zabezpečenie primeranej životaschopnosti po rozmrazení alebo CM-1 (katalógové číslo 800100 spoločnosti Cytion), ktoré obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory na zlepšenie obnovy a zníženie stresu spôsobeného kryom.

Thawing and Culturing Cells

1. Overte si, že injekčná liekovka zostane pri doručení hlboko zmrazená, pretože bunky sa prepravujú na suchom ľade, aby sa počas prepravy udržala optimálna teplota.
2. Po prijatí buď okamžite uskladnite kryovialku pri teplote nižšej ako -150 °C, aby ste zabezpečili zachovanie bunkovej integrity, alebo prejdite na krok 3, ak je potrebná okamžitá kultivácia.
3. V prípade okamžitej kultivácie injekčnú liekovku rýchlo rozmrazte ponorením do vodného kúpeľa s teplotou 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálnym prostriedkom, pričom ju jemne miešajte 40 - 60 sekúnd, kým nezostane malý ľadový chumáč.
4. Všetky ďalšie kroky vykonajte v sterilných podmienkach v prietokovom digestore a pred otvorením kryovialku dezinfikujte 70 % etanolom.
5. Opatrne otvorte dezinfikovanú fľaštičku a preneste bunkovú suspenziu do 15 ml centrifugačnej skúmavky obsahujúcej 8 ml kultivačného média s izbovou teplotou a jemne premiešajte.
6. Zmes odstreďujte pri 300 x g počas 3 minút, aby sa bunky oddelili, a opatrne zlikvidujte supernatant obsahujúci zvyšky zmrazovacieho média.
7. Pelet buniek jemne resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačného média. V prípade adherentných buniek rozdeľte suspenziu medzi dve kultivačné banky T25; v prípade suspenzných kultúr preneste všetko médium do jednej banky T25, aby ste podporili účinnú interakciu a rast buniek.
8. Dodržiavajte zavedené subkultivačné protokoly na nepretržitý rast a udržiavanie bunkovej línie, čím sa zabezpečia spoľahlivé výsledky experimentov.

Incubation Atmosphere

25 °C, okolité ovzdušie (nie je potrebný CO₂).

Shipping Conditions

Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne -78 °C počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

KC bunky | 300604

**Storage
Conditions**

Na dlhodobé uchovávanie umiestnite injekčné liekovky do kvapalnej fázy dusíka v pare pri teplote približne -150 až -196 °C. Skladovanie pri teplote -80 °C je prijateľné len ako krátky prechodný krok pred presunom do tekutého dusíka.

Kontrola kvality a molekulárna analýza