Product sheet

Клітини KC | 300604

Загальна інформація

Description	KC (Kc167) — це ембріональна клітинна лінія Drosophila melanogaster, отримана з жіночого ембріона на стадії дорсального закриття, зареєстрована в базі даних Cellosaurus під номером CVCL_Z833. Ця лінія була створена ще на початку досліджень і широко використовується в клітинній біології Drosophila, генетичних скринінгах та функціональній геноміці. Клітини Kc167 були імунізовані вірусом SV40 і ростуть у напівадгезивному режимі, утворюючи змішану популяцію прикріплених та вільно плаваючих клітин. Вони входять до числа найкраще охарактеризованих клітинних ліній Drosophila та повністю піддаються придушенню генів за допомогою РНК-інтерференції (RNAi), що робить їх основоположною моделлю для геномних скринінгів на основі РНК-інтерференції в біології безхребетних. Клітини KC застосовуються в клітинній біології дрозофіли, геномних скринінгах за допомогою РНК-інтерференції та CRISPR, дослідженнях шляхів передачі сигналів (Wnt/Wingless, Hedgehog, Notch, JAK/STAT, Toll/NF-κB), дослідженнях вродженого імунітету та порівняльних дослідженнях еволюційно консервативних шляхів. Повністю секвенований та анотований геном дрозофіли в поєднанні з обширними загальнодоступними базами даних реагентів РНК-інтерференції (наприклад, DRSC/TRiP) робить клітини KC особливо ефективними для об'єктивних відкриттів у галузі функціональної геноміки. Через імортализацію вірусом SV40 до них застосовується класифікація BSL-2. Клітини KC культивують у середовищі Шнайдера для дрозофіли, доповненому 2 мМ глутаміну та 10 % FBS. Важливо, що клітинні лінії дрозофіли культивують при **25 °C у навколишньому повітрі без CO_2** (а не при 37 °C / 5 % CO_2, як у випадку клітин ссавців). Пасажування клітин здійснюється шляхом обережного ресуспендування та розведення (напівадгезивний ріст). Середовище оновлюють або клітини розводять кожні 2–3 дні.
Organism	Drosophila melanogaster (плодова муха)
Tissue	Ембріон
Disease	Нормально
Metastatic site	Ембріон (стадія закриття дорсального краю)
Applications	Клітинна біологія дрозофіли; скринінги за методом РНК-інтерференції на рівні геному; скринінги за методом CRISPR; передача сигналів (Wnt/Wingless, Hedgehog, Notch, JAK/STAT, Toll/NF-κB); вроджений імунітет; функціональна геноміка безхребетних
Synonyms	K.C., K.C.

Характеристики

Age	Етап закриття спинної частини
Gender	Жінка

Клітини KC | 300604

Morphology	Напівадгезивний, схожий на епітелій
Cell type	Ембріональні клітини
Growth properties	напівприлипаючий

Нормативні дані

Citation	KC (номер у каталозі Cytion 300604)
Biosafety level	2
NCBI_TaxID	7227
CellosaurusAccession	CVCL_Z833
GMO Status	GMO-S2: Ця клітинна лінія дрозофіли містить стабільно інтегровану касету імунізації SV40. Необхідне дотримання рівня біологічної безпеки BSL-2. Ця класифікація діє лише на території Німеччини і може відрізнятися в інших країнах.

Біомолекулярні дані

Virus susceptibility	SV40, що набув безсмертя

Обробка

Culture Medium	Середовище Шнайдера для дрозофіл + 2 мМ глютаміну + 10 % сироватки ембріонів великої рогатої худоби (FBS).
Supplements	Додайте до середовища 2 мМ глутаміну та 10 % FBS
Dissociation Reagent	Не потрібно (напівадгезивний; обережно ресуспендувати)
Doubling time	приблизно від 24 до 48 годин
Subculturing	Акуратно перенесіть культуру піпеткою, щоб ресуспендувати напівадгезивні клітини. Перенесіть відповідний об'єм у нову колбу та додайте свіже, попередньо підігріте середовище Шнайдера. Розведіть до щільності від 5×10^5 до 1×10^6 клітин/мл. Інкубуйте при температурі 25 °C на повітрі без CO_2.

Клітини KC | 300604

Split ratio	від 1 до 3
Seeding density	від 5×10^5 до 1×10^6 клітин/мл
Fluid renewal	Кожні 2-3 дні
Freeze medium	Як середовище кріоконсервування ми використовуємо повне живильне середовище (включаючи FBS) + 10% ДМСО для адекватної життєздатності після відтавання або CM-1 (номер за каталогом Cytion 800100), до складу якого входять оптимізовані осмопротектори та метаболічні стабілізатори для прискорення відновлення та зменшення кріоіндукованого стресу.

Thawing and Culturing Cells

1. Переконайтеся, що віал залишається глибоко замороженим після доставки, оскільки клітини транспортуються на сухому льоду для підтримання оптимальної температури під час транспортування.

2. Після отримання негайно зберігайте кріовіал при температурі нижче -150°C, щоб забезпечити збереження клітинної цілісності, або перейдіть до кроку 3, якщо потрібне негайне культивування.

3. Для негайного культивування швидко розморозьте віал, зануривши його у водяну баню з чистою водою і антимікробним засобом при температурі 37°C, обережно перемішуючи протягом 40-60 секунд, поки не залишиться невелика крижана грудка.

4. Всі наступні кроки виконуйте в стерильних умовах у проточній витяжній шафі, дезінфікуючи кріовіал 70% етанолом перед відкриттям.

5. Обережно відкрийте продезінфікований флакон і перенесіть клітинну суспензію в 15 мл центрифужну пробірку, що містить 8 мл культурального середовища кімнатної температури, обережно перемішуючи.

6. Відцентрифугуйте суміш при 300 x g протягом 3 хвилин, щоб відокремити клітини, і обережно викиньте надосадову рідину, що містить залишки заморожувального середовища.

7. Обережно ресуспендуйте осад клітин у 10 мл свіжого культурального середовища. Для адгезивних клітин розділіть суспензію між двома культуральними колбами T25; для суспензійних культур перенесіть все середовище в одну колбу T25, щоб сприяти ефективній взаємодії та росту клітин.

8. Дотримуйтесь встановлених протоколів субкультивування для продовження росту і підтримання клітинної лінії, забезпечуючи надійні результати експерименту.

Клітини KC | 300604

Incubation Atmosphere	25 °C, повітря навколишнього середовища (CO_2 не потрібний).
Shipping Conditions	Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевіреній ізольованій упаковці з достатньою кількістю холодоагенту для підтримання температури приблизно -78 °C під час транспортування. При отриманні негайно огляньте контейнер і негайно перемістіть віали у відповідне місце для зберігання.
Storage Conditions	Для тривалого зберігання помістіть флакони в парофазний рідкий азот при температурі від -150 до -196 °C. Зберігання при -80 °C допустиме лише як короткий проміжний етап перед перенесенням у рідкий азот.

Контроль якості та молекулярний аналіз