

Ku 80-/- rakud | 305258

Üldine teave

Description

Ku80-/- MEF (Mouse Embryonic Fibroblast) rakud on geneetiliselt muundatud fibroblastarakud, mis on saadud hiirtest, kellel puudub Ku80 geen (XRCC5). Ku80 valk moodustab koos Ku70-ga Ku heterodimeeri, mis on oluline DNA kahesoonealiste katkestuste (DSB) parandamise mittehomooloogilise lõppliitumise (NHEJ) jaoks. Ku80 puudumine neis rakkudes kahjustab nende võimet DSB-d tõhusalt parandada, mistõttu on need rakud väärtuslik mudel NHEJ-tee rolli uurimiseks genoomi stabiilsuses, DNA parandamise mehhanismides ja vähibioloogias.

Ku80-/- MEF-rakud on suurenenud tundlikkus ioniseeriva kiirguse ja teiste DNA-d kahjustavate ainete suhtes, mis on tingitud nende DSB-de parandamise võimekuse vähenemisest. Samuti kalduvad need rakud akumulerima kromosoomaberratsioone ja ilmutama genoomset ebastabiilsust. Ku80 puudumine ei mõjuta mitte ainult DNA parandamist, vaid ka teisi rakulisi protsesse, nagu V(D)J rekombinatsioon, mis on immuunsüsteemi antikehade ja T-rakkude retseptorite mitmekesise repertuaari kujunemiseks ülioluline.

Ku80-/- MEF rakkudega tehtud uuringud on andnud olulise ülevaate NHEJ molekulaarsetest mehhanismidest ja DNA parandamise defekti laiematest tagajärgedest. Need uuringud on olulised vähi ja muude genoomse ebastabiilsusega seotud haiguste tekke mõistmiseks. Lisaks aitavad need uurida võimalikke terapeutilisi sihtmärke DNA parandamise tõhustamiseks vähirakkudes, parandades seeläbi vähiravi tõhusust, mis põhineb DNA kahjustuste esilekutsumisel kasvajakududes.

Organism

Hiir

Tissue

Embrüo

Disease

Tavaline hiire embrüonaalne fibroblast (Ku80/XRCC5-knockout; SV40-ga surematuks muudetud; NHEJ-defitsiitne)

Metastatic site

Ei kohaldata (immortaliseeritud MEF; ei ole kliiniline kasvajaproov)

Applications

NHEJ-põhine DNA-parandamise uurimine; Ku80/XRCC5 funktsioon; DNA kahe ahela murru (DSB) parandamine; genoomse ebastabiilsuse modelleerimine; kiirgustundlikkus; V(D)J-rekombinatsioon; vähibioloogia; genotoksilisuse testimine; DNA-kahjustusele reageerimine

Synonyms

Ku80-/- MEF

Omadused

Age

12-13 lootepäeva

Gender

Täpsustamata

Ethnicity

Ei kohaldata (hiire rakuliin)

Ku 80-/- rakud | 305258

Morphology Fibroblastilaadsed**Cell type** Fibroblastide**Growth properties** Kinnipeetav

Regulatiivsed andmed

Citation Ku 80-/- (Cytioni katalooginumber 305258)**Biosafety level** 2**NCBI_TaxID** 10090**CellosaurusAccession** CVCL_UJ16**GMO Status** GMO-S1: Selles MEF-rakuliinis on homosügootne Ku80 (XRCC5) knock-out ja SV40 suure T-antigeeni abil saavutatud immortalisatsioon. SV40-transgeen on stabiilselt integreeritud. See klassifikatsioon kehtib ainult Saksamaal ja võib mujal erineda.

Biomolekulaarsed andmed

Viruses Transformant: simian virus 40 (SV40)**Mutational profile** Mutatsioon: Ku80-/-

Töötlemine

Culture Medium DMEM, w: 4,5 g/L glükoosi, w: 4 mM L-glutamiini, w: 3,7 g/L NaHCO₃, w: 1,0 mM naatriumpüruvaati (Cytioni artikli number 820300a)**Supplements** Täiendada söötme 10% FBS-ga**Dissociation Reagent** Accutase

Ku 80-/- rakud | 305258

Subculturing

Eemaldage kleepunud rakkudel vana söötme ja peske neid PBS-ga, milles puudub kaltsium ja magneesium. T25 kolbide puhul kasutage 3-5 ml PBS-i ja T75 kolbide puhul 5-10 ml. Seejärel katke rakud täielikult Accutase'iga, kasutades 1-2 ml T25 kolbide puhul ja 2,5 ml T75 kolbide puhul. Laske rakkudel inkubeerida 8-10 minutit toatemperatuuril, et need eralduksid. Pärast inkubeerimist segage rakud ettevaatlikult 10 ml söötmega, et neid resuspendeerida, seejärel tsentrifuugige 3 minutit 300xg juures. Visake supernatant ära, suspenseerige rakud uuesti värskes keskkonnas ja viige need uutesse kolvidesse, mis sisaldavad juba värsket keskkonda.

Freeze medium

Krüosäilitusvedelikusena kasutame täielikku kasvukeskkonda (sh FBS) + 10% DMSO, et tagada piisav elujõulisus pärast sulatamist, või CM-1 (Cytioni katalooginumber 800100), mis sisaldab optimeeritud osmoprotektante ja metaboolseid stabilisaatoreid, et parandada taastumist ja vähendada krüostressi.

Thawing and Culturing Cells

1. Veenduge, et vial jääb tarnimisel sügavkülmutatud, sest rakud transporditakse kuiva jääga, et säilitada optimaalne temperatuur transpordi ajal.
2. Pärast kättesaamist säilitage krüoviaal kas kohe temperatuuril alla -150 °C, et tagada rakkude terviklikkuse säilimine, või jätkake sammuga 3, kui on vaja koheselt kultiveerida.
3. Kohese kultiveerimise korral sulatage vial kiiresti, kastes selle 37 °C veevanni puhta vee ja antimikroobse ainega, segades seda õrnalt 40-60 sekundit, kuni alles jääb väike jääklomp.
4. Tehke kõik järgmised toimingud steriilsetes tingimustes vooluhoodis, desinfitseerides krüoviaal enne avamist 70% etanooliga.
5. Avage desinfitseeritud vial ettevaatlikult ja viige rakususpensioon ettevaatlikult segades 15 ml tsentrifuugitorusse, mis sisaldab 8 ml toatemperatuuril olevat kasvukeskkonda.
6. Rakkude eraldamiseks tsentrifuugige segu 300 x g juures 3 minutit ja visake ülejäänud külmutusvedelikku sisaldav supernatant ettevaatlikult ära.
7. Resuspendeerige rakupellet ettevaatlikult 10 ml värskes kasvukeskkonnas. Adhereerivate rakkude puhul jagage suspensioon kahe T25 kultuurkolvi vahel; suspensioonikultuuride puhul kandke kogu söötme keskkond ühte T25 kolbi, et soodustada rakkude tõhusat koostoimet ja kasvu.
8. Järgige kehtestatud subkultuuriprotokolle rakuliini jätkuvaks kasvuks ja säilitamiseks, tagades usaldusväärsed katsetulemused.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO₂, niisutatud atmosfäär.

Flask Coating

Puudub

Ku 80-/- rakud | 305258

Freezing Procedure

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu -78 °C. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige viaalid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

Shipping Conditions

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu -78 °C. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige viaalid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

Storage Conditions

Pikaajaliseks säilitamiseks asetage viaalid aurufaasis vedela lämmastikuga umbes -150 kuni -196 °C juures. Säilitamine temperatuuril -80 °C on vastuvõetav ainult lühikese vaheetapina enne vedela lämmastikuga üleviimist.

Kvaliteedikontroll ja molekulaaranalüüs

Sterility

Mükoplasmakontaminatsioon on välistatud nii PCR-põhiste analüüside kui ka luminescentsil põhinevate mükoplasma tuvastamise meetodite abil.

Bakteriaalse, seene- või pärmsaaste puudumise tagamiseks kontrollitakse rakukultuure iga päev visuaalselt.