

Ku80-/- ląstelės | 305258

Bendra informacija

Description

Ku80-/- MEF (pelės embrioninio fibroblasto) ląstelės yra genetiškai modifikuotos fibroblastų ląstelės, gautos iš pelių, neturinčių Ku80 geno (XRCC5). Ku80 baltymas kartu su Ku70 sudaro Ku heterodimerą, kuris yra būtinas DNR dvigubos grandinės pertrūkio (DSB) pataisos nehomologinio sujungimo (NHEJ) būdai. Ku80 nebuvimas šiose ląstelėse sumažina jų gebėjimą veiksmingai taisyti DSB, todėl jos yra vertingas NHEJ kelio vaidmens genomo stabilumui, DNR taisymo mechanizmams ir vėžio biologijai tirti modelis.

Ku80-/- MEF ląstelės yra jautresnės jonizuojančiai spinduliutei ir kitiems DNR žalojantiems veiksniais dėl sutrikusio DSB atstatymo gebėjimo. Šios ląstelės taip pat linkusios kaupti chromosomines aberacijas ir pasižymi genomo nestabilumu. Ku80 trūkumas turi įtakos ne tik DNR taisymui, bet ir kitiems ląstelių procesams, pavyzdžiui, V(D)J rekombinacijai, kuri yra labai svarbi kuriant įvairų antikūnų repertuarą ir T ląstelių receptorių imunitinėje sistemoje.

Tyrimai, atlikti naudojant Ku80-/- MEF ląsteles, suteikė svarbių įžvalgų apie NHEJ molekulinis mechanizmus ir platesnes DNR atstatymo defektų pasekmes. Šie tyrimai labai svarbūs siekiant suprasti vėžio ir kitų ligų, susijusių su genomo nestabilumu, vystymąsi. Be to, jie padeda iširti galimus terapinius taikinius, skirtus DNR taisymui vėžinėse ląstelėse sustiprinti, taip padidinant vėžio gydymo, kuris remiasi DNR pažeidimų naviko ląstelėse sukėlimu, veiksmingumą.

Organism

Pelė

Tissue

Embrionas

Disease

Normalūs pelės embrioniniai fibroblastai (Ku80/XRCC5 genų išjungimas; SV40 virusu imortalizuoti; be NHEJ)

Metastatic site

Netaikoma (imortalizuotos MEF ląstelės; tai nėra klinikinis naviko mėginys)

Applications

NHEJ DNR remonto tyrimai; Ku80/XRCC5 funkcija; DNR dvigrandžių lūžių (DSB) remontas; genomio nestabilumo modeliavimas; jautrumas radiacijai; V(D)J rekombinacija; vėžio biologija; genotoksiškumo tyrimai; reakcija į DNR pažeidimus

Synonyms

Ku80-/- MEF

Charakteristikos

Age

12-13 vaisiaus dienų

Gender

Nenustatyta

Ethnicity

Netaikoma (pelės ląstelių linija)

Morphology

Į fibroblastus panašus

Ku 80-/- ląstelės | 305258

Cell type Fibroblastai**Growth properties** Prigludęs

Reguliavimo duomenys

Citation Ku 80-/- (Cytion katalogo numeris 305258)**Biosafety level** 2**NCBI_TaxID** 10090**CellosaurusAccession** CVCL_UJ16**GMO Status** GMO-S1: Ši MEF ląstelių linija pasižymi homozigotiniu Ku80 (XRCC5) geno išjungimu ir SV40 didžiojo T antigeno sukeltu nemirtingumu. SV40 transgenas yra stabiliai integruotas. Ši klasifikacija galioja tik Vokietijoje ir kitose šalyse gali skirtis.

Biomolekuliniai duomenys

Viruses Transformantas: Simiano virusas 40 (SV40)**Mutational profile** Mutacija: Ku80-/-

Tvarkymas

Culture Medium DMEM, š: 4,5 g/l gliukozės, š: 4 mM L-glutamino, š: 3,7 g/l NaHCO₃, š: 1,0 mM natrio piruvato (Cytion gaminio numeris 820300a)**Supplements** Papildykite terpę 10 % FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Pašalinkite seną terpę nuo prilipusių ląstelių ir nuplaukite jas PBS, kuriame nėra kalcio ir magnio. T25 kolboms naudokite 3-5 ml PBS, o T75 kolboms - 5-10 ml. Tuomet visiškai užpilkite ląsteles "Accutase", naudodami 1-2 ml T25 kolboms ir 2,5 ml T75 kolboms. Leiskite ląstelėms inkubuotis kambario temperatūroje 8-10 minučių, kad jos atsiskirtų. Po inkubacijos atsargiai sumaišykite ląsteles su 10 ml terpės, kad jos vėl suspenduotų, tada 3 minutes centrifuguokite 300xg greičiu. Išmeskite supernatantą, vėl sutirpinkite ląsteles šviežioje terpėje ir perkeltkite jas į naujas kolbas, kuriose jau yra šviežia terpė.

Ku 80-/- ląstelės | 305258

Freeze medium

Kaip kriokonservavimo terpę naudojame visišką augimo terpę (įskaitant FBS) + 10 % DMSO, kad būtų užtikrintas tinkamas gyvybingumas po atšildymo, arba CM-1 (Cytion katalogo numeris 800100), kurioje yra optimizuotų osmoprotektorių ir medžiagų apykaitos stabilizatorių, kad būtų pagerintas atsigavimas ir sumažintas kriokonservavimo sukeltas stresas.

Thawing and Culturing Cells

1. Patikrinkite, ar pristatant buteliuką jis išlieka gerai užšaldytas, nes ląstelės gabenamos ant sauso ledo, kad gabenimo metu būtų palaikoma optimali temperatūra.
2. Gavę iš karto laikykite kriovialą žemesnėje nei -150°C temperatūroje, kad užtikrintumėte ląstelių vientisumo išsaugojimą, arba pereikite prie 3 veiksmo, jei reikia nedelsiant kultivuoti.
3. Jei norite nedelsiant pradėti kultivuoti, greitai atšildykite buteliuką panardindami jį į 37°C temperatūros vandens vonelę su švariu vandeniu ir antimikrobine priemone, švelniai maišydami 40-60 sekundžių, kol liks nedidelis ledo gabalėlis.
4. Visus tolesnius veiksmus atlikite steriliomis sąlygomis srauto gaubte, prieš atidarydami kriovialą dezinfekuokite jį 70 % etanoliu.
5. Atsargiai atidarykite dezinfekuotą buteliuką ir perpilkite ląstelių suspensiją į 15 ml centrifugos mėgintuvėlį, kuriame yra 8 ml kambario temperatūros mitybinės terpės, atsargiai išmaišykite.
6. Mišinį centrifuguokite $300 \times g$ greičiu 3 minutes, kad atsiskirtų ląstelės, ir atsargiai išmeskite supernatantą su šaldymo terpės likučiais.
7. Švelniai resuspenduokite ląstelių granules 10 ml šviežios mitybinės terpės. Jei ląstelės yra prigludusios, suspensiją padalykite į dvi T25 kolbas; jei tai suspensinės kultūros, visą terpę perkelkite į vieną T25 kolbą, kad paskatintumėte veiksmingą ląstelių sąveiką ir augimą.
8. Laikykitės nustatytų subkultūrų protokolų, kad ląstelių linija nuolat augtų ir būtų palaikoma, taip užtikrinant patikimus eksperimentų rezultatus.

Incubation Atmosphere

37°C , 5 % CO_2 , drėkintoje atmosferoje.

Flask Coating

Nėra

Freezing Procedure

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug -78°C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelkite mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

Ku 80-/- ląstelės | 305258

Shipping Conditions

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug -78 °C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelkite mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

Storage Conditions

Norėdami ilgai saugoti, įdėkite buteliukus į garų fazės skystą azotą maždaug -150-196 °C temperatūroje. Laikymas -80 °C temperatūroje yra priimtinas tik kaip trumpas tarpinis etapas prieš perkeltant į skystąjį azotą.

Kokybės kontrolė ir molekulinė analizė

Sterility

Mikoplazmos užterštumas atmetamas taikant PGR pagrįstus tyrimus ir liuminescencinius mikoplazmos aptikimo metodus.

Siekiant užtikrinti, kad nebūtų užteršimo bakterijomis, grybeliais ar mielėmis, ląstelių kultūros kasdien vizualiai tikrinamos.