

Ku 80-/- šūnas | 305258

Vispārīga informācija

Description

Ku80-/- MEF (Mouse Embryonic Fibroblast) šūnas ir ģenētiski inženierijas ceļā iegūtas peļu fibroblastu šūnas, kurām trūkst Ku80 gēna (XRCC5). Ku80 proteīns kopā ar Ku70 veido Ku heterodimēru, kas ir būtisks DNS dubultās virknes pārrāvuma (DSB) remontam NHEJ (non-homologous end joining) ceļā. Ku80 trūkums šajās šūnās mazina to spēju efektīvi labot DSB, padarot tās par vērtīgu modeli NHEJ ceļa lomas izpētei genoma stabilitātē, DNS labošanas mehānismos un vēža bioloģijā.

Ku80-/- MEF šūnām ir paaugstināta jutība pret jonizējošo starojumu un citiem DNS bojājošiem aģentiem, jo ir traucēta DSB labošanas spēja. Šīm šūnām arī ir tendence uzkrāties hromosomu aberācijas un genoma nestabilitāte. Ku80 trūkums ietekmē ne tikai DNS labošanu, bet arī citus šūnu procesus, piemēram, V(D)J rekombināciju, kas ir būtiska daudzveidīga antivielu repertuāra un T-šūnu receptoru attīstībai imūnajā sistēmā.

Pētījumi, kuros izmantotas Ku80-/- MEF šūnas, ir snieguši būtisku ieskatu NHEJ molekulārajos mehānismos un plašākā nozīmē par bojātas DNS labošanas sekām. Šie pētījumi ir ļoti svarīgi, lai izprastu vēža un citu ar genoma nestabilitāti saistītu slimību attīstību. Turklāt tie palīdz izpētīt potenciālos terapeitiskos mērķus, lai uzlabotu DNS labošanu vēža šūnās, tādējādi uzlabojot to vēža ārstēšanas metožu efektivitāti, kuru pamatā ir DNS bojājumu izraisīšana audzēja šūnās.

Organism Pele

Tissue Embrijs

Synonyms Ku80-/- MEF

Raksturojums

Age 12-13 augļa dienas

Gender Nav norādīts

Morphology Fibroblasti

Cell type Fibroblasti

Growth properties Adherent

Normatīvie dati

Citation Ku 80-/- (Cytion kataloga numurs 305258)

Ku 80-/- šūnas | 305258

Biosafety level 2**NCBI_TaxID** 10090**CellosaurusAccession** CVCL_UJ16**Biomolekulārie dati****Viruses** Transformants: Sīmiāna vīruss 40 (SV40)**Mutational profile** Mutācija: Ku80-/-**Darbs ar****Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/l glikozes, w: 4 mM L-glutamīna, w: 3,7 g/l NaHCO₃, w: 1,0 mM nātrija piruvāta (Cytion izstrādājuma numurs 820300a)**Supplements** Papildināt barotni ar 10% FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Noņem veco barotni no pielipušajām šūnām un mazgāt tās ar PBS, kurā nav kalcija un magnija. T25 kolbām izmantojiet 3-5 ml PBS, bet T75 kolbām - 5-10 ml. Pēc tam pilnībā pārklājiet šūnas ar Accutase, izmantojot 1-2 ml T25 kolbām un 2,5 ml T75 kolbām. Ļaujiet šūnām inkubēties istabas temperatūrā 8-10 minūtes, lai tās atdalītos. Pēc inkubācijas uzmanīgi samaisiet šūnas ar 10 ml barotnes, lai tās atkārtoti suspendētu, pēc tam centrifugējiet 3 minūtes ar 300xg. Izmetiet supernatantu, atkārtoti suspendējiet šūnas svaigā barotnē un pārvietojiet tās jaunās kolbās, kurās jau ir svaiga barotne.**Freeze medium** Kā kriokonservēšanas barotni mēs izmantojam pilnvērtīgu augšanas barotni (ieskaitot FBS) + 10 % DMSO, lai nodrošinātu pietiekamu dzīvotspēju pēc atkausēšanas, vai CM-1 (Cytion kataloga numurs 800100), kas ietver optimizētus osmoprotektorus un metaboliskos stabilizatorus, lai uzlabotu atveseļošanos un samazinātu krioinducēto stresu.

Ku 80-/- šūnas | 305258

Thawing and Culturing Cells

1. Pārliecinieties, ka pēc piegādes flakons paliek dziļi sasaldēts, jo šūnas tiek sūtītas uz sausā ledus, lai pārvadāšanas laikā saglabātu optimālu temperatūru.
2. Pēc saņemšanas vai nu nekavējoties uzglabāt kriovialu temperatūrā, kas zemāka par -150 °C, lai nodrošinātu šūnu integritātes saglabāšanu, vai arī turpināt 3. posmu, ja nepieciešama tūlītēja kultivēšana.
3. Tūlītējas kultivēšanas gadījumā ātri atkausējiet flakonu, iegremdējot to 37°C ūdens vannā ar tīru ūdeni un antibakteriālu līdzekli, viegli maisot 40-60 sekundes, līdz paliek neliels ledus gabaliņš.
4. Visas turpmākās darbības veiciet sterilos apstākļos plūsmas nosūcējā, pirms atvēršanas dezinficējot kriovialu ar 70% etanolu.
5. Uzmanīgi atveriet dezinficēto flakonu un pārnesiet šūnu suspensiju 15 ml centrifūgas mēģenē, kurā ir 8 ml istabas temperatūras barotnes, uzmanīgi samaisot.
6. Centrifugējiet maisījumu ar 300 x g 3 minūtes, lai atdalītu šūnas, un uzmanīgi izmetiet virskārtu, kas satur saldēšanas barotnes atlikumus.
7. Viegli resuspendēt šūnu granulas 10 ml svaigas barotnes. Adhēzijas šūnu gadījumā suspensiju sadalīt divās T25 kolbās; suspensijas kultūrām visu barotni pārnest vienā T25 kolbā, lai veicinātu efektīvu šūnu mijiedarbību un augšanu.
8. Ievērojiet noteiktos subkultūru protokolus, lai nodrošinātu nepārtrauktu šūnu līnijas augšanu un uzturēšanu, tādējādi nodrošinot uzticamus eksperimentu rezultātus.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO_2 , mitrināta atmosfēra.

Flask Coating

Neviens

Freezing Procedure

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidrums daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

Ku 80-/- šūnas | 305258

**Shipping
Conditions**

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidrums daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

**Storage
Conditions**

Ilgstošai uzglabāšanai flakonus ievietojiet šķidrā slāpekļī ar tvaika fāzi aptuveni -150 līdz -196 °C temperatūrā. Uzglabāšana -80 °C temperatūrā ir pieļaujama tikai kā īss starposms pirms pārvietošanas uz šķidro slāpekli.

Kvalitātes kontrole / Ģenētiskais profils / HLA

Sterility

Mikoplazmas piesārņojums tiek izslēgts, izmantojot gan uz PCR balstītus testus, gan uz luminiscenci balstītas mikoplazmas noteikšanas metodes.

Lai pārliecinātos, ka nav baktēriju, sēnīšu vai rauga piesārņojuma, šūnu kultūras katru dienu vizuāli pārbauda.