

Ku 80-/- buňky | 305258

Obecné informace

Description

Ku80-/- MEF (Mouse Embryonic Fibroblast) jsou geneticky upravené fibroblastové buňky odvozené od myši, které postrádají gen Ku80 (XRCC5). Protein Ku80 spolu s Ku70 tvoří heterodimer Ku, který je nezbytný pro cestu NHEJ (non-homologous end joining) při opravě dvouřetězcových zlomů DNA (DSB). Absence Ku80 v těchto buňkách zhoršuje jejich schopnost účinně opravovat DSB, což z nich činí cenný model pro studium úlohy dráhy NHEJ v genomové stabilitě, mechanismech oprav DNA a biologii rakoviny.

Ku80-/- MEF buňky vykazují zvýšenou citlivost vůči ionizujícímu záření a dalším látkám poškozujícím DNA v důsledku zhoršené schopnosti opravovat DSB. Tyto buňky mají také tendenci hromadit chromozomální aberace a vykazují genomickou nestabilitu. Nedostatek Ku80 ovlivňuje nejen opravu DNA, ale také další buněčné procesy, jako je V(D)J rekombinace, která je klíčová pro vývoj rozmanitého repertoáru protilátek a T-buněčných receptorů v imunitním systému.

Výzkum s použitím Ku80-/- MEF buněk přinesl významné poznatky o molekulárních mechanismech NHEJ a širších důsledcích defektní opravy DNA. Tyto studie mají zásadní význam pro pochopení vývoje rakoviny a dalších onemocnění spojených s genomovou nestabilitou. Kromě toho pomáhají při zkoumání potenciálních terapeutických cílů pro zlepšení oprav DNA v nádorových buňkách, a tím i zlepšení účinnosti léčby rakoviny, která je založena na vyvolání poškození DNA v nádorových buňkách.

Organism Myš

Tissue Embrya

Synonyms Ku80-/- MEF

Charakteristika

Age 12-13 plodových dnů

Gender Nespecifikováno

Morphology Fibroblasty

Cell type Fibroblasty

Growth properties Adherentní

Regulační údaje

Citation Ku 80-/- (katalogové číslo Cytion 305258)

Ku 80-/- buňky | 305258**Biosafety level** 2**NCBI_TaxID** 10090**CellosaurusAccession** CVCL_UJ16**Biomolekulární data****Viruses** Transformant: Simian virus 40 (SV40)**Mutational profile** Mutace: Ku80-/-**Zpracování****Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/l glukózy, w: 4 mM L-glutaminu, w: 3,7 g/l NaHCO₃, w: 1,0 mM pyruvátu sodného (číslo výrobku Cytion 820300a)**Supplements** Doplněte médium o 10% FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Odstraňte staré médium z adherovaných buněk a promyjte je PBS bez vápníku a hořčíku. Pro baňky T25 použijte 3-5 ml PBS a pro baňky T75 5-10 ml. Poté buňky zcela zakryjte přípravkem Accutase, přičemž použijte 1-2 ml pro baňky T25 a 2,5 ml pro baňky T75. Nechte buňky inkubovat při pokojové teplotě po dobu 8-10 minut, aby se oddělily. Po inkubaci jemně promíchejte buňky s 10 ml média, aby byly znovu suspendovány, a poté je odstředte při 300xg po dobu 3 minut. Supernatant vyhodte, buňky znovu rozpustte v čerstvém médiu a přeneste je do nových baněk, které již obsahují čerstvé médium.**Freeze medium** Jako kryokonzervační médium používáme kompletní růstové médium (včetně FBS) + 10 % DMSO pro zajištění dostatečné životaschopnosti po rozmrazení nebo CM-1 (katalogové číslo 800100 společnosti Cytion), které obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory pro zlepšení regenerace a snížení stresu způsobeného kryo.

Ku 80-/- buňky | 305258

Thawing and Culturing Cells

1. Ověřte si, že lahvička zůstane při dodání hluboce zmrazená, protože buňky se přepravují na suchém ledu, aby se během přepravy udržely optimální teploty.
2. Po obdržení kryovialku buď okamžitě uložte při teplotě nižší než -150 °C, abyste zajistili zachování buněčné integrity, nebo přejděte ke kroku 3, pokud je nutná okamžitá kultivace.
3. Pro okamžitou kultivaci rychle rozmrazte lahvičku ponořením do vodní lázně o teplotě 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálním prostředkem a jemně ji míchejte po dobu 40-60 sekund, dokud nezůstane malý ledový chuchvalec.
4. Všechny další kroky provádějte za sterilních podmínek v průtokové digestoři a před otevřením kryovialku dezinfikujte 70% ethanolem.
5. Opatrně otevřete dezinfikovanou lahvičku a přeneste buněčnou suspenzi do 15 ml centrifugační zkumavky obsahující 8 ml kultivačního média o pokojové teplotě a jemně promíchejte.
6. Směs odstředujte při 300 x g po dobu 3 minut, aby se buňky oddělily, a supernatant obsahující zbytky mrazicího média opatrně zlikvidujte.
7. Pelety buněk jemně resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačního média. U adherentních buněk rozdělte suspenzi mezi dvě kultivační baňky T25; u suspenzních kultur přeneste veškeré médium do jedné baňky T25, abyste podpořili účinnou interakci a růst buněk.
8. Dodržujte zavedené subkultivační protokoly pro kontinuální růst a udržování buněčné linie, čímž zajistíte spolehlivé výsledky experimentů.

Incubation Atmosphere

37 °C, 5 % CO_2 , zvlhčená atmosféra.

Flask Coating

Žádný

Freezing Procedure

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

Shipping Conditions

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

Ku 80-/- buňky | 305258

**Storage
Conditions**

Pro dlouhodobé uchování umístěte lahvičky do kapalného dusíku v plynné fázi při teplotě přibližně -150 až -196 °C. Skladování při -80 °C je přijatelné pouze jako krátký přechodný krok před přemístěním do kapalného dusíku.

Kontrola kvality / Genetický profil / HLA

Sterility

Kontaminace mykoplazmaty je vyloučena jak pomocí testů založených na PCR, tak pomocí luminiscenčních metod detekce mykoplazmy.

Aby se zajistilo, že nedojde ke kontaminaci bakteriemi, plísněmi nebo kvasinkami, jsou buněčné kultury denně podrobovány vizuálním kontrolám.