

Ku 80-/- solut | 305258**Yleisiä tietoja****Description**

Ku80-/- MEF-solut (Mouse Embryonic Fibroblast) ovat geneettisesti muunnettuja fibroblastisoluja, jotka on saatu hiiristä, joilta puuttuu Ku80-geeni (XRCC5). Ku80-proteiini muodostaa yhdessä Ku70:n kanssa Ku-heterodimeerin, joka on välttämätön DNA:n kaksoisäikeiden katkosten (DSB) korjauksen NHEJ-reitillä (non-homologous end joining). Ku80:n puuttuminen näistä soluista heikentää niiden kykyä korjata tehokkaasti DSB:itä, mikä tekee niistä arvokkaan mallin NHEJ-reitin roolin tutkimiseksi genomistabiilisuudessa, DNA:n korjausmekanismeissa ja syöpäbiologiassa.

Ku80-/- MEF-soluilla on lisääntynyt herkkyys ionisoivalle säteilylle ja muille DNA:ta vahingoittaville aineille, mikä johtuu niiden heikentyneestä DSB:n korjauskyvystä. Näillä soluilla on myös taipumus kerätä kromosomipoikkeavuuksia ja osoittaa genomista epävakautta. Ku80:n puute vaikuttaa DNA:n korjauksen lisäksi myös muihin soluprosesseihin, kuten V(D)J-rekombinaatioon, joka on ratkaisevan tärkeää immuunijärjestelmän vasta-aineiden ja T-solureseptorien monipuolisen repertuaarin kehittymiselle.

Ku80-/- MEF-soluilla tehdyt tutkimukset ovat antaneet merkittävää tietoa NHEJ:n molekylimekanismeista ja DNA:n korjauksen puutteiden laajemmista vaikutuksista. Nämä tutkimukset ovat ratkaisevan tärkeitä syövän ja muiden genomiseen epävakautteen liittyvien sairauksien kehittymisen ymmärtämiseksi. Lisäksi ne auttavat tutkimaan mahdollisia terapeuttisia kohteita DNA:n korjauksen tehostamiseksi syöpäsoluissa ja siten parantamaan sellaisten syöpähoitojen tehokkuutta, jotka perustuvat DNA-vaurioiden aiheuttamiseen kasvainsoluissa.

Organism Hiiri**Tissue** Alkio**Synonyms** Ku80-/- MEF**Ominaisuudet****Age** 12-13 sikiöpäivää**Gender** Määrittelemätön**Morphology** Fibroblastit**Cell type** Fibroblastit**Growth properties** Tarttuva**Säätelytiedot**

Ku 80-/- solut | 305258

Citation Ku 80-/- (Cytionin luettelonumero 305258)**Biosafety level** 2**NCBI_TaxID** 10090**CellosaurusAccession** CVCL_UJ16**Biomolekyylitiedot****Viruses** Transformantti: Simian virus 40 (SV40)**Mutational profile** Mutaatio: Ku80-/-**Käsittely****Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/l glukoosia, w: 4 mM L-glutamiinia, w: 3,7 g/l NaHCO₃, w: 1,0 mM natriumpyruvaattia (Cytionin artikkelinumero 820300a)**Supplements** Täydennetään elatusainetta 10 %:lla FBS:llä**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Poista vanha väliaine tarttuneista soluista ja pese ne PBS:llä, josta puuttuu kalsiumia ja magnesiumia. Käytä T25-pulloissa 3-5 ml PBS:ää ja T75-pulloissa 5-10 ml. Peitä sitten solut kokonaan Accutase-valmisteella, käyttäen 1-2 ml T25-pulloissa ja 2,5 ml T75-pulloissa. Anna solujen inkuboitua huoneenlämmössä 8-10 minuuttia solujen irtoamiseksi. Inkuboinnin jälkeen solut sekoitetaan varovasti 10 ml:n väliaineella niiden resuspendoimiseksi ja sentrifugoidaan sitten 300xg:n nopeudella 3 minuutin ajan. Hävitä supernatantti, suspendoi solut uudelleen tuoreessa väliaineessa ja siirrä ne uusiin pulloihin, jotka sisältävät jo tuoretta väliaineita.**Freeze medium** Kryosäilytysmediana käytämme täydellistä kasvualustaa (mukaan lukien FBS) + 10 % DMSO:ta riittävän sulatuksen jälkeisen elinkelpoisuuden varmistamiseksi tai CM-1:tä (Cytionin luettelonumero 800100), joka sisältää optimoituja osmoprotectantteja ja metabolisia stabilisaattoreita, jotka parantavat elpymistä ja vähentävät kryosäilytyksen aiheuttamaa stressiä.

Ku 80-/- solut | 305258

Thawing and Culturing Cells

1. Varmista, että injektiopullo pysyy syväjäädetyttynä toimitettaessa, sillä solut kuljetetaan kuivajäädessä, jotta optimaalinen lämpötila säilyy kuljetuksen aikana.
2. Vastaanotettaessa kryopullo joko säilytetään välittömästi alle -150 °C:n lämpötilassa solujen eheyden säilyttämiseksi tai edetään vaiheeseen 3, jos tarvitaan välitöntä viljelyä.
3. Välitöntä viljelyä varten sulata injektiopullo nopeasti upottamalla se 37 °C:n vesihauteeseen, jossa on puhdasta vettä ja antimikrobista ainetta, ja sekoittamalla sitä varovasti 40-60 sekunnin ajan, kunnes jäädästä on jäljellä pieni jäämöhkäle.
4. Suorita kaikki seuraavat vaiheet steriileissä olosuhteissa virtaushupussa ja desinfioi kryopullo 70-prosenttisellä etanolilla ennen avaamista.
5. Avaa desinfioitu injektiopullo varovasti ja siirrä solususpensio 15 ml:n sentrifugiputkeen, joka sisältää 8 ml huoneenlämpöistä elatusainetta, varovasti sekoittaen.
6. Sentrifugoi seosta 300 x g:n voimakkuudella 3 minuutin ajan solujen erottamiseksi ja hävitä varovasti supernatantti, joka sisältää jäännöspakastusmediumia.
7. Suspendoidaan solupelletti varovasti uudelleen 10 ml:aan tuoretta elatusainetta. Jos solut ovat tarttuvaa, jaa suspensio kahden T25-kolvin kesken; jos kyseessä ovat suspensioviljelmät, siirrä kaikki väliaine yhteen T25-kolviin solujen tehokkaan vuorovaikutuksen ja kasvun edistämiseksi.
8. Noudata vakiintuneita aliviljelyprotokollia solulinjan jatkuvan kasvun ja ylläpidon varmistamiseksi ja luotettavien kokeellisten tulosten varmistamiseksi.

Incubation Atmosphere

37 °C, 5 % CO_2 , kostutettu ilmakehä.

Flask Coating

Ei mitään

Freezing Procedure

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäädessä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

Shipping Conditions

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäädessä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

Ku 80-/- solut | 305258

**Storage
Conditions**

Pitkäaikaissäilytystä varten injektiopullot asetetaan höyryfaasissa olevaan nestemäiseen tyypeen noin -150 - -196 °C:een. Säilytys -80 °C:ssa on hyväksyttävää vain lyhyenä välivaiheena ennen siirtoa nestemäiseen tyypeen.

Laadunvalvonta / Geneettinen profiili / HLA

Sterility

Mykoplasmakontaminaatio suljetaan pois sekä PCR-pohjaisilla määrittelyillä että luminesenssiin perustuvilla mykoplasman osoitusmenetelmillä.

Bakteeri-, sieni- tai hiivakontaminaation välttämiseksi soluviljelmät tarkastetaan päivittäin silmämääräisesti.