

Ku 80-/- sejtek | 305258

Általános információk

Description

A Ku80-/- MEF (Mouse Embryonic Fibroblast) sejtek olyan egerekből származó, genetikailag módosított fibroblaszt sejtek, amelyekből hiányzik a Ku80 gén (XRCC5). A Ku80 fehérje a Ku70-zel együtt a Ku heterodimert alkotja, amely nélkülözhetetlen a DNS kettősszál-törés (DSB) javításának nem-homológ végcsatlakozási (NHEJ) útvonalához. A Ku80 hiánya ezekben a sejtekben rontja a DSB-k hatékony javításának képességét, így értékes modellé válnak az NHEJ útvonal genomi stabilitásában, DNS-javító mechanizmusokban és a rákbiológiában betöltött szerepének tanulmányozására.

A Ku80-/- MEF sejtek fokozott érzékenységet mutatnak az ionizáló sugárzással és más DNS-károsító ágensekkel szemben, ami a DSB-javító képességük csökkenésének köszönhető. Ezek a sejtek hajlamosak kromoszóma-rendellenességek felhalmozódására és genomiális instabilitásra is. A Ku80 hiánya nem csak a DNS-javítást, hanem más sejtfolyamatokat is befolyásol, mint például a V(D)J rekombinációt, amely döntő fontosságú az immunrendszerben az antitestek és T-sejt receptorok változatos repertoárjának kialakulásához.

A Ku80-/- MEF sejtekkel végzett kutatások jelentős betekintést nyújtottak az NHEJ molekuláris mechanizmusába és a hibás DNS-javítás tágabb értelemben vett következményeibe. Ezek a vizsgálatok kulcsfontosságúak a rák és más, genomiális instabilitással járó betegségek kialakulásának megértéséhez. Emellett segítenek a rákos sejtekben a DNS-javítás fokozását célzó potenciális terápiás célpontok feltárásában, ezáltal javítva a daganatsejtekben DNS-károsodás kiváltására épülő rákkezelések hatékonyságát.

Organism Egér

Tissue Embrió

Synonyms Ku80-/- MEF

Jellemzők

Age 12-13 magzati nap

Gender Meghatározatlan

Morphology Fibroblasztok

Cell type Fibroblasztok

Growth properties Adherent

Szabályozási adatok

Citation Ku 80-/- (Cytion katalógusszám: 305258)

Ku 80-/- sejtek | 305258**Biosafety level** 2**NCBI_TaxID** 10090**CellosaurusAccession** CVCL_UJ16**Biomolekuláris adatok****Viruses** Transzformáns: Simian virus 40 (SV40)**Mutational profile** Mutáció: Ku80-/-**A kezelése****Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/L glükóz, w: 4 mM L-Glutamin, w: 3,7 g/L NaHCO₃, w: 1,0 mM nátrium-piruvát (Cytion cikkszám 820300a)**Supplements** A táptalajt egészítsük ki 10% FBS-szel**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Távolítsa el a régi táptalajt a megtapadt sejtekről, és mossa őket kalcium- és magnéziummentes PBS-szel. T25-ös lombikokhoz 3-5 ml PBS-t, T75-ös lombikokhoz pedig 5-10 ml-t használjunk. Ezután fedjük be a sejteket teljesen Accutase-zal, T25 lombikok esetében 1-2 ml-t, T75 lombikok esetében 2,5 ml-t használva. A sejteket 8-10 percig hagyjuk szobahőmérsékleten inkubálni, hogy leváljanak. Az inkubálás után óvatosan keverjük össze a sejteket 10 ml tápfolyadékkal, hogy reszuszpendáljuk őket, majd centrifugáljuk 300xg-nél 3 percig. Dobja el a felülúszót, szuszpendálja újra a sejteket friss tápfolyadékban, és helyezze át őket új lombikokba, amelyek már friss tápfolyadékot tartalmaznak.**Freeze medium** Krioprezerváló táptalajként teljes növekedési táptalajt (beleértve az FBS-t) + 10% DMSO-t használunk a megfelelő kiolvasztás utáni életképesség érdekében, vagy CM-1-et (Cytion katalógusszám: 800100), amely optimalizált ozmoprotektánsokat és metabolikus stabilizátorokat tartalmaz a regenerálódás fokozása és a krio-indukált stressz csökkentése érdekében.

Ku 80-/- sejtek | 305258

Thawing and Culturing Cells

1. Ellenőrizze, hogy az injekciós üveg a szállításkor mélyhűtött marad-e, mivel a sejteket szárazjégen szállítják, hogy a szállítás során az optimális hőmérsékletet fenntartsák.
2. Átvételt követően vagy azonnal tárolja a krioampullát -150 °C alatti hőmérsékleten a sejtek integritásának megőrzése érdekében, vagy folytassa a 3. lépéssel, ha azonnali tenyésztésre van szükség.
3. Azonnali tenyésztés esetén gyorsan fel kell olvasztani az injekciós üveget úgy, hogy tiszta vízzel és antimikrobiális szerrel ellátott 37 °C -os vízfürdőbe merítjük, és 40-60 másodpercig óvatosan kevergetjük, amíg egy kis jégcsomó nem marad.
4. Az összes további lépést steril körülmények között, áramlásos elszívóban végezzük el, és nyitás előtt fertőtlenítsük a kriofülkét 70%-os etanollal.
5. Óvatosan nyissa fel a fertőtlenített fiolát, és a sejtuszpenziót óvatosan összekeverve helyezze át egy 15 ml-es centrifugacsőbe, amely 8 ml szobahőmérsékletű táptalajt tartalmaz.
6. Centrifugáljuk az elegyet $300 \times g$ -n 3 percig a sejtek szétválasztásához, és óvatosan dobjuk el a maradék fagyasztóközeget tartalmazó felülúszót.
7. Óvatosan szuszpendáljuk újra a sejt pelletet 10 ml friss táptalajban. Adhezív sejtek esetében ossza a szuszpenziót két T25-ös tenyésztőlombik között; szuszpenziós kultúrák esetében az összes tápfolyadékot tegye át egy T25-ös lombikba a hatékony sejt kölcsönhatás és növekedés elősegítése érdekében.
8. A sejt vonal folyamatos növekedése és fenntartása érdekében tartsa be a megállapított szubkultúra protokollokat, biztosítva a megbízható kísérleti eredményeket.

Incubation Atmosphere

37 °C , 5% CO_2 , párasított légkör.

Flask Coating

Nincs

Freezing Procedure

A kriokonzervált sejt vonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül -78 °C -on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

Shipping Conditions

A kriokonzervált sejt vonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül -78 °C -on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

Ku 80-/- sejtek | 305258

**Storage
Conditions**

Hosszú távú tartósítás céljából helyezze az üvegeket gőzfázisú folyékony nitrogénbe, körülbelül -150 és -196 °C közötti hőmérsékleten. A -80 °C-on történő tárolás csak rövid átmeneti lépésként fogadható el a folyékony nitrogénbe való átvitel előtt.

Minőségellenőrzés / Genetikai profil / HLA

Sterility

A mikoplazma-szennyeződést mind a PCR-alapú vizsgálatokkal, mind a lumineszcencia-alapú mikoplazma-kimutatási módszerekkel kizárják.

A bakteriális, gombás vagy élesztőgombás szennyeződés elkerülése érdekében a sejt kultúrákat napi vizuális ellenőrzésnek vetik alá.