

Komórki Ku 80-/- | 305258**Informacje ogólne****Description**

Komórki Ku80-/- MEF (Mouse Embryonic Fibroblast) to genetycznie zmodyfikowane komórki fibroblastów pochodzące od myszy, którym brakuje genu Ku80 (XRCC5). Białko Ku80, w połączeniu z Ku70, tworzy heterodimer Ku, który jest niezbędny dla szlaku niehomologicznego łączenia końców (NHEJ) naprawy podwójnych pęknięć nici DNA (DSB). Brak Ku80 w tych komórkach upośledza ich zdolność do skutecznej naprawy DSB, co czyni je cennym modelem do badania roli szlaku NHEJ w stabilności genomu, mechanizmach naprawy DNA i biologii raka.

Komórki MEF Ku80-/- wykazują zwiększoną wrażliwość na promieniowanie jonizujące i inne czynniki uszkodzające DNA ze względu na ich upośledzoną zdolność naprawy DSB. Komórki te mają również tendencję do gromadzenia aberracji chromosomalnych i wykazują niestabilność genomową. Brak Ku80 wpływa nie tylko na naprawę DNA, ale także na inne procesy komórkowe, takie jak rekombinacja V(D)J, która ma kluczowe znaczenie dla rozwoju zróżnicowanego repertuaru przeciwciał i receptorów komórek T w układzie odpornościowym.

Badania z wykorzystaniem komórek Ku80-/- MEF dostarczyły znaczącego wglądu w molekularne mechanizmy NHEJ i szersze implikacje wadliwej naprawy DNA. Badania te mają kluczowe znaczenie dla zrozumienia rozwoju raka i innych chorób związanych z niestabilnością genomu. Dodatkowo, pomagają one w badaniu potencjalnych celów terapeutycznych w celu zwiększenia naprawy DNA w komórkach nowotworowych, poprawiając tym samym skuteczność leczenia raka, które opiera się na indukowaniu uszkodzeń DNA w komórkach nowotworowych.

Organism

Mysz

Tissue

Zarodek

Disease

Normalne embrionalne fibroblasty mysie (z wyłączonymi genami Ku80/XRCC5; unieśmiertelnione wirusem SV40; z niedoborem NHEJ)

Metastatic site

Nie dotyczy (unieśmiertelnione komórki MEF; nie jest to próbka guza pochodząca z badania klinicznego)

Applications

Badania nad naprawą DNA metodą NHEJ; funkcja białek Ku80/XRCC5; naprawa podwójnych pęknięć nici DNA (DSB); modelowanie niestabilności genomowej; wrażliwość na promieniowanie; rekombinacja V(D)J; biologia nowotworów; badania genotoksyczności; reakcja na uszkodzenia DNA

Synonyms

Ku80-/- MEF

Charakterystyka**Age**

12-13 dni płodowych

Gender

Nieokreślony

Komórki Ku 80-/- | 305258**Ethnicity** Nie dotyczy (linia komórkowa myszy)**Morphology** Podobny do fibroblastów**Cell type** Fibroblast**Growth properties** Adherent**Dane regulacyjne****Citation** Ku 80-/- (numer katalogowy Cytion 305258)**Biosafety level** 2**NCBI_TaxID** 10090**CellosaurusAccession** CVCL_UJ16**GMO Status** GMO-S1: Ta linia komórkowa MEF charakteryzuje się homozygotycznym wyłączeniem genu Ku80 (XRCC5) oraz unieśmiertelnieniem za pomocą dużego antygenu T wirusa SV40. Transgen SV40 jest stabilnie zintegrowany. Klasyfikacja ta obowiązuje wyłącznie na terenie Niemiec i może różnić się w innych krajach.**Dane biomolekularne****Viruses** Transformant: Simian virus 40 (SV40)**Mutational profile** Mutacja: Ku80-/-**Obsługa****Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/l glukozy, w: 4 mM L-glutaminy, w: 3,7 g/l NaHCO₃, w: 1,0 mM pirogronianu sodu (numer artykułu Cytion 820300a)**Supplements** Uzuppełnić podłoże 10% FBS**Dissociation Reagent** Accutase

Komórki Ku 80-/- | 305258**Subculturing**

Usuń starą pożywkę z przylegających komórek i przemyj je PBS, który nie zawiera wapnia i magnezu. W przypadku kolb T25 należy użyć 3-5 ml PBS, a w przypadku kolb T75 5-10 ml. Następnie całkowicie pokryj komórki Accutase, używając 1-2 ml dla kolb T25 i 2,5 ml dla kolb T75. Pozwól komórkom inkubować w temperaturze pokojowej przez 8-10 minut, aby je oddzielić. Po inkubacji delikatnie wymieszaj komórki z 10 ml pożywki, aby ponownie je zawiesić, a następnie odwiruj przy 300xg przez 3 minuty. Odrzuć supernatant, ponownie zawiesić komórki w świeżej pożywce i przenieść je do nowych kolb zawierających już świeżą pożywkę.

Freeze medium

Jako pożywki do kriokonserwacji używamy kompletnej pożywki wzrostowej (w tym FBS) + 10% DMSO w celu zapewnienia odpowiedniej żywotności po rozmrożeniu lub CM-1 (numer katalogowy Cytion 800100), która zawiera zoptymalizowane osmoprotektanty i stabilizatory metaboliczne w celu zwiększenia regeneracji i zmniejszenia stresu wywołanego kriokonserwacją.

Thawing and Culturing Cells

1. Upewnij się, że fiolka pozostaje głęboko zamrożona w momencie dostawy, ponieważ komórki są wysyłane w suchym lodzie, aby utrzymać optymalną temperaturę podczas transportu.
2. Po otrzymaniu należy natychmiast przechowywać fiolkę w temperaturze poniżej -150°C, aby zapewnić zachowanie integralności komórek, lub przejść do kroku 3, jeśli wymagana jest natychmiastowa hodowla.
3. W przypadku natychmiastowej hodowli należy szybko rozmrozić fiolkę, zanurzając ją w łaźni wodnej o temperaturze 37°C z czystą wodą i środkiem przeciwdrobnoustrojowym, delikatnie mieszając przez 40-60 sekund, aż pozostanie niewielka grudka lodu.
4. Wykonaj wszystkie kolejne kroki w sterylnych warunkach w kapturze przepływowej, dezynfekując fiolkę 70% etanolem przed otwarciem.
5. Ostrożnie otwórz zdezynfekowaną fiolkę i przenieś zawiesinę komórek do 15 ml probówki wirówkowej zawierającej 8 ml podłoża hodowlanego o temperaturze pokojowej, delikatnie mieszając.
6. Wirować mieszaninę z prędkością 300 x g przez 3 minuty w celu oddzielenia komórek i ostrożnie odrzucić supernatant zawierający pozostałości pożywki do zamrażania.
7. Delikatnie ponownie zawiesić osad komórek w 10 ml świeżego podłoża hodowlanego. W przypadku komórek przylegających, rozdzielić zawiesinę pomiędzy dwie kolby hodowlane T25; w przypadku hodowli zawiesinowych, przenieść całą pożywkę do jednej kolby T25 w celu promowania skutecznej interakcji i wzrostu komórek.
8. Przestrzegaj ustalonych protokołów podhodowli w celu ciągłego wzrostu i utrzymania linii komórkowej, zapewniając wiarygodne wyniki eksperymentów.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO₂, nawilżona atmosfera.

Komórki Ku 80-/- | 305258

Flask Coating Brak

Freezing Procedure

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiołki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Shipping Conditions

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiołki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Storage Conditions

W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiołki w ciekłym azocie w fazie lotnej w temperaturze od -150 do -196 °C. Przechowywanie w temperaturze -80 °C jest dopuszczalne tylko jako krótki etap przejściowy przed przeniesieniem do ciekłego azotu.

Kontrola jakości i analiza molekularna

Sterility

Zanieczyszczenie mykoplazmą jest wykluczane przy użyciu zarówno testów opartych na PCR, jak i metod wykrywania mykoplazmy opartych na luminescencji.

Aby upewnić się, że nie ma zanieczyszczenia bakteriami, grzybami lub drożdżami, hodowle komórkowe są poddawane codziennym kontrolom wizualnym.