

Ku 80-/- bunky | 305258**Všeobecné informácie****Description**

Ku80-/- MEF (Mouse Embryonic Fibroblast) bunky sú geneticky upravené fibroblastové bunky získané z myši, ktorým chýba gén Ku80 (XRCC5). Proteín Ku80 v spojení s Ku70 tvorí heterodimér Ku, ktorý je nevyhnutný pre cestu nehomologického spájania koncov (NHEJ) pri oprave dvojreťazcových zlomov DNA (DSB). Absencia Ku80 v týchto bunkách zhoršuje ich schopnosť účinne opravovať DSB, čo z nich robí cenný model na štúdium úlohy cesty NHEJ v genómovej stabilite, mechanizmoch opravy DNA a v biológii rakoviny.

Ku80-/- MEF bunky vykazujú zvýšenú citlivosť na ionizujúce žiarenie a iné látky poškadzujúce DNA v dôsledku zhoršenej schopnosti opravy DSB. Tieto bunky majú tiež tendenciu hromadiť chromozómové aberácie a vykazujú genomickú nestabilitu. Nedostatok Ku80 ovplyvňuje nielen opravu DNA, ale aj iné bunkové procesy, ako je V(D)J rekombinácia, ktorá je kľúčová pre vývoj rozmanitého repertoáru protilátok a T-bunkových receptorov v imunitnom systéme.

Výskum s použitím Ku80-/- MEF buniek priniesol významné poznatky o molekulárnych mechanizmoch NHEJ a širších dôsledkoch chybné opravy DNA. Tieto štúdie sú kľúčové pre pochopenie vývoja rakoviny a iných ochorení spojených s genomickou nestabilitou. Okrem toho pomáhajú pri skúmaní potenciálnych terapeutických cieľov na zlepšenie opravy DNA v rakovinových bunkách, čím sa zlepší účinnosť liečby rakoviny, ktorá spočíva v indukcii poškodenia DNA v nádorových bunkách.

Organism

Myš

Tissue

Embryo

Disease

Normálne embryonálne fibroblasty myši (knockout Ku80/XRCC5; imortalizované vírusom SV40; s deficitom NHEJ)

Metastatic site

Neplatí (imortalizované MEF; nejde o klinickú vzorku nádoru)

Applications

Výskum opravy DNA prostredníctvom mechanizmu NHEJ; funkcia proteínov Ku80/XRCC5; oprava dvojreťazcových zlomov DNA (DSB); modelovanie genómovej nestability; citlivosť na žiarenie; V(D)J rekombinácia; biológia rakoviny; testovanie genotoxicity; reakcia na poškodenie DNA

Synonyms

Ku80-/- MEF

Charakteristika**Age**

12-13 fetálnych dní

Gender

Nešpecifikované

Ethnicity

Neplatí (myšia bunková línia)

Ku 80-/- bunky | 305258

Morphology Fibroblastom podobné**Cell type** Fibroblasty**Growth properties** Adherent

Regulačné údaje

Citation Ku 80-/- (katalógové číslo Cytion 305258)**Biosafety level** 2**NCBI_TaxID** 10090**CellosaurusAccession** CVCL_UJ16**GMO Status** GMO-S1: Táto línia MEF vykazuje homozygotnú knockout mutáciu génu Ku80 (XRCC5) a imortalizáciu prostredníctvom veľkého T-antigénu vírusu SV40. Transgén SV40 je stabilne integrovaný. Táto klasifikácia platí iba v Nemecku a v iných krajinách sa môže líšiť.

Biomolekulárne údaje

Viruses Transformant: Simian virus 40 (SV40)**Mutational profile** Mutácia: Ku80-/-

Spracovanie

Culture Medium DMEM, w: 4,5 g/l glukózy, w: 4 mM L-glutamínu, w: 3,7 g/l NaHCO₃, w: 1,0 mM pyruvátu sodného (číslo výrobku Cytion 820300a)**Supplements** Doplníte médium o 10 % FBS**Dissociation Reagent** Accutase

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

Odstráňte staré médium z adherovaných buniek a premyte ich PBS, ktorý neobsahuje vápnik a horčík. Pre banky T25 použite 3 - 5 ml PBS a pre banky T75 použite 5 - 10 ml. Potom bunky úplne pokryte Accutase, pričom použite 1 - 2 ml pre banky T25 a 2,5 ml pre banky T75. Nechajte bunky inkubovať pri izbovej teplote 8-10 minút, aby sa oddelili. Po inkubácii jemne premiešajte bunky s 10 ml média, aby boli znovu suspendované, a potom ich 3 minúty odstredíte pri 300xg. Supernatant zlikvidujte, bunky znovu rozmiešajte v čerstvom médiu a preneste ich do nových fliaš, ktoré už obsahujú čerstvé médium.

Freeze medium

Ako kryokonzervačné médium používame kompletne rastové médium (vrátane FBS) + 10 % DMSO na zabezpečenie primeranej životaschopnosti po rozmrazení alebo CM-1 (katalógové číslo 800100 spoločnosti Cytion), ktoré obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory na zlepšenie obnovy a zníženie stresu spôsobeného kryom.

Thawing and Culturing Cells

1. Overte si, že injekčná liekovka zostane pri doručení hlboko zmrazená, pretože bunky sa prepravujú na suchom ľade, aby sa počas prepravy udržala optimálna teplota.
2. Po prijatí buď okamžite uskladnite kryovialku pri teplote nižšej ako -150 °C, aby ste zabezpečili zachovanie bunkovej integrity, alebo prejdite na krok 3, ak je potrebná okamžitá kultivácia.
3. V prípade okamžitej kultivácie injekčnú liekovku rýchlo rozmrazte ponorením do vodného kúpeľa s teplotou 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálnym prostriedkom, pričom ju jemne miešajte 40 - 60 sekúnd, kým nezostane malý ľadový chumáč.
4. Všetky ďalšie kroky vykonajte v sterilných podmienkach v prietokovom digestore a pred otvorením kryovialku dezinfikujte 70 % etanolom.
5. Opatrne otvorte dezinfikovanú fľaštičku a preneste bunkovú suspenziu do 15 ml centrifugačnej skúmavky obsahujúcej 8 ml kultivačného média s izbovou teplotou a jemne premiešajte.
6. Zmes odstredíte pri 300 x g počas 3 minút, aby sa bunky oddelili, a opatrne zlikvidujte supernatant obsahujúci zvyšky zmrazovacieho média.
7. Pelet buniek jemne resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačného média. V prípade adherentných buniek rozdeľte suspenziu medzi dve kultivačné banky T25; v prípade suspenzných kultúr preneste všetko médium do jednej banky T25, aby ste podporili účinnú interakciu a rast buniek.
8. Dodržiavajte zavedené subkultivačné protokoly na nepretržitý rast a udržiavanie bunkovej línie, čím sa zabezpečia spoľahlivé výsledky experimentov.

Incubation Atmosphere

37 °C, 5 % CO_2 , zvlhčená atmosféra.

Flask Coating

Žiadne

Ku 80-/- bunky | 305258

Freezing Procedure

Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne -78 °C počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

Shipping Conditions

Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne -78 °C počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

Storage Conditions

Na dlhodobé uchovávanie umiestnite injekčné liekovky do kvapalnej fázy dusíka v pare pri teplote približne -150 až -196 °C. Skladovanie pri teplote -80 °C je prijateľné len ako krátky prechodný krok pred presunom do tekutého dusíka.

Kontrola kvality a molekulárna analýza

Sterility

Kontaminácia mykoplazmami sa vylučuje pomocou testov založených na PCR a metód detekcie mykoplaziem založených na luminiscencii.

Aby sa zabezpečilo, že nedošlo ku kontaminácii baktériami, hubami alebo kvasinkami, bunkové kultúry sa denne vizuálne kontrolujú.