

Ku80-/- celice | 305258**Splošne informacije****Description**

Ku80-/- MEF (mišji embrionalni fibroblast) so gensko spremenjene fibroblastne celice, pridobljene iz miši, ki nimajo gena Ku80 (XRCC5). Beljakovina Ku80 skupaj s Ku70 tvori heterodimer Ku, ki je bistven za pot NHEJ (non-homologous end joining) pri popravljanju dvojnih prekinitev verig DNK (DSB). Odsotnost Ku80 v teh celicah zmanjšuje njihovo sposobnost učinkovitega popravljanja DSB, zato so dragocen model za preučevanje vloge poti NHEJ pri stabilnosti genoma, mehanizmih popravljanja DNK in biologiji raka.

Ku80-/- MEF celice kažejo večjo občutljivost na ionizirajoče sevanje in druge dejavnike, ki poškodujejo DNK, zaradi oslabiljene sposobnosti popravljanja DSB. Te celice tudi kopičijo kromosomske aberacije in kažejo genomsko nestabilnost. Pomanjkanje Ku80 ne vpliva le na popravljanje DNK, temveč tudi na druge celične procese, kot je rekombinacija V(D)J, ki je ključna za razvoj raznolikega repertoarja protiteles in celičnih receptorjev T v imunskem sistemu.

Raziskave z uporabo Ku80-/- MEF celic so omogočile pomemben vpogled v molekularne mehanizme NHEJ in širše posledice okvar pri popravljanju DNK. Te študije so ključne za razumevanje razvoja raka in drugih bolezni, povezanih z genomsko nestabilnostjo. Poleg tega pomagajo pri raziskovanju potencialnih terapevtskih ciljev za izboljšanje popravljanja DNK v rakavih celicah, s čimer se izboljša učinkovitost zdravljenja raka, ki temelji na povzročanju poškodb DNK v tumorskih celicah.

Organism

Miška

Tissue

Zarodek

Disease

Normalni embrionalni fibroblasti miši (brez genov Ku80/XRCC5; immortalizirani s SV40; brez NHEJ)

Metastatic site

Ne velja (immortalizirane MEF-celice; ne gre za klinični vzorec tumorja)

Applications

Raziskave popravljanja DNK po mehanizmu NHEJ; delovanje Ku80/XRCC5; popravljanje dvojnovitih prelomov DNK (DSB); modeliranje genomne nestabilnosti; občutljivost na sevanje; V(D)J-rekombinacija; biologija raka; testiranje genotoksičnosti; odziv na poškodbe DNK

Synonyms

Ku80-/- MEF

Značilnosti**Age**

12-13 fetalnih dni

Gender

Neopredeljeno

Ethnicity

Ni relevantno (celična linija miši)

Morphology

Fibroblastom podobni

Ku 80-/- celice | 305258**Cell type** Fibroblast**Growth properties** Pripadajoče**Regulativni podatki****Citation** Ku 80-/- (katalogska številka Cytion 305258)**Biosafety level** 2**NCBI_TaxID** 10090**CellosaurusAccession** CVCL_UJ16**GMO Status** GMO-S1: Ta linija MEF ima homozigotno izklopljeno gen Ku80 (XRCC5) in je imortalizirana z velikim T-antigenom SV40. Transgen SV40 je stabilno integriran. Ta klasifikacija velja le v Nemčiji in se drugod lahko razlikuje.**Biomolekularni podatki****Viruses** Transformant: Simijanski virus 40 (SV40)**Mutational profile** Mutacija: Ku80-/-**Ravnanje s spletno stranjo****Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/L glukoze, w: 4 mM L-glutamina, w: 3,7 g/L NaHCO₃, w: 1,0 mM natrijevega piruvata (številka izdelka Cytion 820300a)**Supplements** Gojišče dopolnite z 10 % FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Odstranite staro gojišče z adherentnih celic in jih sperite s PBS, ki ne vsebuje kalcija in magnezija. Za bučke T25 uporabite 3-5 ml PBS, za bučke T75 pa 5-10 ml. Nato celice popolnoma prekrijte z Accutase, pri čemer uporabite 1-2 ml za bučke T25 in 2,5 ml za bučke T75. Celice pustite inkubirati pri sobni temperaturi 8-10 minut, da se ločijo. Po inkubaciji celice nežno premešajte z 10 ml gojišča, da se ponovno suspendirajo, nato jih 3 minute centrifugirajte pri 300xg. Zavrzite supernatant, ponovno suspendirajte celice v svežem gojišču in jih prenesite v nove bučke, ki že vsebujejo sveže gojišče.

Ku 80-/- celice | 305258

Freeze medium

Kot gojišče za kriokonzervacijo uporabljamo popolno rastno gojišče (vključno s FBS) + 10 % DMSO za ustrezno vitalnost po odmrznitvi ali CM-1 (kataloška številka 800100 podjetja Cytion), ki vključuje optimizirane osmoprotektante in presnovne stabilizatorje za izboljšanje okrevanja in zmanjšanje stresa, povzročenega s kriom.

Thawing and Culturing Cells

1. Prepričajte se, da je viala ob dostavi globoko zamrznjena, saj se celice pošiljajo na suhem ledu, da se med prevozom ohrani optimalne temperature.
2. Po prejemu kriovial takoj shranite pri temperaturi pod -150°C , da zagotovite ohranitev celične celovitosti, ali pa nadaljujte s korakom 3, če je potrebno takojšnje gojenje.
3. Za takojšnje gojenje vialo hitro odtalite tako, da jo potopite v vodno kopel s čisto vodo in protimikrobnim sredstvom pri 37°C ter 40-60 sekund nežno mešate, dokler ne ostane majhen ledeni kepica.
4. Vse nadaljnje korake izvajajte v sterilnih pogojih v pretočni nape, pred odprtjem pa kriovial razkužite s 70 % etanolom.
5. Previdno odprite razkuženo vialo in celično suspenzijo prenesite v 15-mililitrsko centrifugirno epruveto, ki vsebuje 8 ml gojišča sobne temperature, ter nežno premešajte.
6. Mešanico centrifugirajte pri $300 \times g$ 3 minute, da ločite celice, in previdno zavržite supernatant, ki vsebuje ostanke zamrzovalnega gojišča.
7. Pelet celic nežno ponovno suspendirajte v 10 ml svežega gojišča. Pri adherentnih celicah suspenzijo razdelite med dve bučki T25; pri suspenzijskih kulturah prenesite vse gojišče v eno bučko T25, da spodbudite učinkovito interakcijo in rast celic.
8. Upoštevajte uveljavljene protokole subkultur za nadaljnjo rast in vzdrževanje celične linije ter tako zagotovite zanesljive rezultate poskusov.

Incubation Atmosphere

37°C , 5 % CO_2 , vlažno ozračje.

Flask Coating

Nič

Freezing Procedure

Kriokonzervirane celične linije se pošiljajo na suhem ledu v potrjeni, izolirani embalaži z zadostno količino hladilnega sredstva, da se med prevozom vzdržuje približno -78°C . Ob prejemu takoj preglejte embalažo in vialo nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.

Ku 80-/- celice | 305258

Shipping Conditions

Kriokonzervirane celične linije se pošiljajo na suhem ledu v potrjeni, izolirani embalaži z zadostno količino hladilnega sredstva, da se med prevozom vzdržuje približno -78 °C. Ob prejemu takoj preglejte embalažo in vialo nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.

Storage Conditions

Za dolgotrajno shranjevanje vial postavite v tekoči dušik v parni fazi pri približno -150 do -196 °C. Shranjevanje pri -80 °C je sprejemljivo le kot kratek vmesni korak pred prenosom v tekoči dušik.

Kontrola kakovosti in molekularna analiza

Sterility

Kontaminacija z mikoplazmo se izključi z uporabo testov na podlagi PCR in metod za odkrivanje mikoplazme na podlagi luminiscence.

Da se zagotovi, da ni kontaminacije z bakterijami, glivami ali kvasovkami, se celične kulture dnevno vizualno pregledujejo.