

Ku 80-/- Hücreleri | 305258**Genel bilgi****Description**

Ku80-/- MEF (Fare Embriyonik Fibroblast) hücreleri, Ku80 geninden (XRCC5) yoksun farelerden elde edilen genetik olarak tasarlanmış fibroblast hücreleridir. Ku80 proteini, Ku70 ile birlikte, DNA çift iplikçik kopması (DSB) onarımının homolog olmayan uç birleştirme (NHEJ) yolu için gerekli olan Ku heterodimerini oluşturur. Bu hücrelerde Ku80'in yokluğu, DSB'leri etkili bir şekilde onarma yeteneklerini bozar ve onları NHEJ yolunun genomik stabilite, DNA onarım mekanizmaları ve kanser biyolojisindeki rolünü incelemek için değerli bir model haline getirir.

Ku80-/- MEF hücreleri, tehlikeye girmiş DSB onarım kapasiteleri nedeniyle iyonlaştırıcı radyasyona ve diğer DNA'ya zarar veren ajanlara karşı artan hassasiyet sergiler. Bu hücreler ayrıca kromozomal sapmaları biriktirme ve genomik kararsızlık sergileme eğilimindedir. Ku80 eksikliği sadece DNA onarımını değil, aynı zamanda bağışıklık sisteminde çeşitli antikor repertuarlarının ve T-hücre reseptörlerinin geliştirilmesi için çok önemli olan V(D)J rekombinasyonu gibi diğer hücresel süreçleri de etkiler.

Ku80-/- MEF hücreleri kullanılarak yapılan araştırmalar NHEJ'in moleküler mekanizmaları ve kusurlu DNA onarımının daha geniş etkileri hakkında önemli bilgiler sağlamıştır. Bu çalışmalar, kanserin ve genomik istikrarsızlıkla ilişkili diğer hastalıkların gelişimini anlamak için çok önemlidir. Ayrıca, kanser hücrelerinde DNA onarımını arttırmak için potansiyel terapötik hedeflerin araştırılmasına yardımcı olurlar, böylece tümör hücrelerinde DNA hasarını indüklemeye dayanan kanser tedavilerinin etkinliğini artırırlar.

Organism

Fare

Tissue

Embriyo

Disease

Normal fare embriyonik fibroblast (Ku80/XRCC5 genleri devre dışı bırakılmış; SV40 ile ölümsüzleştirilmiş; NHEJ eksikliği olan)

Metastatic site

Uygulanamaz (ölümsüzleştirilmiş MEF; klinik tümör örneği değildir)

Applications

NHEJ DNA onarımı araştırması; Ku80/XRCC5 işlevi; DNA çift sarmal kırığı (DSB) onarımı; genomik instabilite modellemesi; radyasyona duyarlılık; V(D)J rekombinasyonu; kanser biyolojisi; genotoksisite testi; DNA hasarına yanıt

Synonyms

Ku80-/- MEF

Özellikler**Age**

12-13 fetal gün

Gender

Belirtilmemiş

Ethnicity

Uygulanamaz (fare hücre hattı)

Ku 80-/- Hücreleri | 305258

Morphology Fibroblast benzeri**Cell type** Fibroblast**Growth properties** Yapışık

Düzenleyici Veriler

Citation Ku 80-/- (Cytion katalog numarası 305258)**Biosafety level** 2**NCBI_TaxID** 10090**CellosaurusAccession** CVCL_UJ16**GMO Status** GMO-S1: Bu MEF hücre hattı, homozigot Ku80 (XRCC5) geninin devre dışı bırakılması ve SV40 büyük T antijeni ile ölümsüzleştirme özelliğini taşır. SV40 transgeni, hücreye kalıcı olarak entegre edilmiştir. Bu sınıflandırma yalnızca Almanya sınırları içinde geçerlidir ve başka ülkelerde farklılık gösterebilir.

Biyomoleküler Veriler

Viruses Transformant: Simian virüs 40 (SV40)**Mutational profile** Mutasyon: Ku80-/-

Elleçleme

Culture Medium DMEM, w: 4,5 g/L Glukoz, w: 4 mM L-Glutamin, w: 3,7 g/L NaHCO₃, w: 1,0 mM Sodyum piruvat (Cytion ürün numarası 820300a)**Supplements** Ortamı %10 FBS ile takviye edin**Dissociation Reagent** Accutase

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

Yapışık hücrelerden eski ortamı çıkarın ve kalsiyum ve magnezyum içermeyen PBS ile yıkayın. T25 şişeleri için 3-5 ml PBS ve T75 şişeleri için 5-10 ml kullanın. Ardından, T25 flasklar için 1-2 ml ve T75 flasklar için 2,5 ml kullanarak hücreleri Accutase ile tamamen kaplayın. Hücreleri ayırmak için oda sıcaklığında 8-10 dakika inkübasyona bırakın. İnkübasyondan sonra, hücreleri yeniden süspanse etmek için 10 ml besiyeriyle hafifçe karıştırın, ardından 300xg'de 3 dakika santrifüjleyin. Süpernatantı atın, hücreleri taze besiyerinde yeniden süspanse edin ve zaten taze besiyeri içeren yeni şişelere aktarın.

Freeze medium

Kriyoprezervasyon ortamı olarak, yeterli çözülme sonrası canlılık için tam büyüme ortamı (FBS dahil) + %10 DMSO veya iyileşmeyi artırmak ve kriyo-indüklenmiş stresi azaltmak için optimize edilmiş ozmoprotektanlar ve metabolik stabilizatörler içeren CM-1 (Cytion katalog numarası 800100) kullanıyoruz.

Thawing and Culturing Cells

1. Hücreler taşıma sırasında optimum sıcaklıkları korumak için kuru buz üzerinde gönderildiğinden, flakonun teslimat sırasında derin dondurulmuş halde kaldığını teyit edin.
2. Teslim aldıktan sonra, hücresel bütünlüğün korunmasını sağlamak için kriyovialı hemen -150°C'nin altındaki sıcaklıklarda saklayın veya hemen kültürleme gerekiyorsa 3. adıma geçin.
3. Derhal kültürleme için flakonu temiz su ve antimikrobiyal bir madde içeren 37°C'lik bir su banyosuna daldırıp küçük bir buz kümesi kalana kadar 40-60 saniye boyunca hafifçe çalkalayarak hızlıca çözün.
4. Sonraki tüm adımları steril koşullar altında bir akış başlığı içinde gerçekleştirin ve açmadan önce kriyoviyalleri %70 etanol ile dezenfekte edin.
5. Dezenfekte edilmiş flakonu dikkatlice açın ve hücre süspansiyonunu 8 ml oda sıcaklığında kültür ortamı içeren 15 ml'lik bir santrifüj tüpüne aktarın ve hafifçe karıştırın.
6. Hücreleri ayırmak için karışımı 300 x g'de 3 dakika santrifüjleyin ve artık dondurma ortamı içeren süpernatantı dikkatlice atın.
7. Hücre peletini 10 ml taze kültür ortamında yavaşça yeniden süspanse edin. Yapışık hücreler için, süspansiyonu iki T25 kültür şişesi arasında bölün; süspansiyon kültürleri için, etkili hücre etkileşimini ve büyümesini teşvik etmek üzere tüm ortamı tek bir T25 şişesine aktarın.
8. Hücre hattının sürekli büyümesi ve bakımı için belirlenmiş alt kültür protokollerine uyun ve güvenilir deneysel sonuçlar elde edin.

Incubation Atmosphere

37°C, %5_{CO2}, nemlendirilmiş atmosfer.

Flask Coating

Yok

Ku 80-/- Hücreleri | 305258

Freezing Procedure

Kriyoprezerve edilmiş hücre hatları, nakliye boyunca yaklaşık -78 °C'yi korumak için yeterli soğutucu akışkan içeren, onaylanmış, yalıtılmış ambalajlarda kuru buz üzerinde gönderilir. Teslim aldığınızda, kabı hemen inceleyin ve flakonları gecikmeden uygun depoya aktarın.

Shipping Conditions

Kriyoprezerve edilmiş hücre hatları, nakliye boyunca yaklaşık -78 °C'yi korumak için yeterli soğutucu akışkan içeren, onaylanmış, yalıtılmış ambalajlarda kuru buz üzerinde gönderilir. Teslim aldığınızda, kabı hemen inceleyin ve flakonları gecikmeden uygun depoya aktarın.

Storage Conditions

Uzun süreli muhafaza için flakonları yaklaşık -150 ila -196 °C'de buhar fazlı sıvı nitrojen içine yerleştirin. 80 °C'de saklama yalnızca sıvı nitrojene aktarılmadan önce kısa bir ara adım olarak kabul edilebilir.

Kalite Kontrol ve Moleküler Analiz

Sterility

Mikoplazma kontaminasyonu hem PCR tabanlı tahliller hem de lüminesans tabanlı mikoplazma tespit yöntemleri kullanılarak dışlanır.

Bakteriyel, fungal veya maya kontaminasyonu olmadığından emin olmak için hücre kültürleri günlük görsel incelemelere tabi tutulur.