Product sheet

Ku 80-/- клетки | 305258

Обща информация

Description	Ku80-/- MEF (миши ембрионален фибробласт) клетките са генетично модифицирани фибробластни клетки, получени от мишки, при които липсва генът Ku80 (XRCC5). Протеинът Ku80, заедно с Ku70, образува хетеродимер Ku, който е от съществено значение за пътя на NHEJ (non-homologous end joining) на поправката на двойно-верижни скъсвания на ДНК (DSB). Липсата на Ku80 в тези клетки нарушава способността им ефективно да поправят DSB, което ги прави ценен модел за изучаване на ролята на пътя NHEJ в геномната стабилност, механизмите за поправка на ДНК и биологията на рака. Ku80-/- MEF клетките проявяват повишена чувствителност към йонизиращо лъчение и други ДНК увреждащи агенти поради нарушената им способност за възстановяване на DSB. Тези клетки също така са склонни да натрупват хромозомни аберации и да проявяват геномна нестабилност. Липсата на Ku80 влияе не само върху възстановяването на ДНК, но и върху други клетъчни процеси като V(D)J рекомбинацията, която е от решаващо значение за развитието на разнообразен репертоар от антитела и Т-клетъчни рецептори в имунната система. Изследванията, в които се използват Ku80-/- MEF клетки, предоставиха значителен поглед върху молекулярните механизми на NHEJ и по-широките последици от дефектното възстановяване на ДНК. Тези изследвания са от решаващо значение за разбирането на развитието на рака и други заболявания, свързани с геномна нестабилност. Освен това те спомагат за проучването на потенциални терапевтични цели за подобряване на възстановяването на ДНК в раковите клетки, като по този начин се подобрява ефикасността на лечението на рака, което разчита на предизвикване на увреждане на ДНК в туморните клетки.
Organism	Мишка
Tissue	Ембрион
Disease	Нормални ембрионални фибробласти от мишка (с нокаут на гена Ku80/XRCC5; иммортализирани с SV40; с дефицит на NHEJ)
Metastatic site	Неприложимо (увековечени MEF; не е клинична туморна проба)
Applications	Изследвания в областта на репарацията на ДНК чрез NHEJ; функция на Ku80/XRCC5; репарация на двойноверижни разкъсвания на ДНК (DSB); моделиране на геномна нестабилност; чувствителност към радиация; V(D)J рекомбинация; биология на рака; тестове за генотоксичност; реакция при увреждане на ДНК
Synonyms	Ku80-/- MEF

Характеристики

Age	12-13 фетални дни

Ku 80-/- клетки | 305258

Gender	Неуточнено
Ethnicity	Неприложимо (клетъчна линия от мишка)
Morphology	Фибробласти
Cell type	Фибробласти
Growth properties	Придържащи се

Регулаторни данни

Citation	Ku 80-/- (каталожен номер 305258 на Cytion)
Biosafety level	2
NCBI_TaxID	10090
CellosaurusAccession	CVCL_UJ16
GMO Status	GMO-S1: Тази линия MEF е с хомозиготен нокаут на гена Ku80 (XRCC5) и е имортализирана чрез големия Т-антиген на SV40. Трансгенът на SV40 е стабилно интегриран. Тази класификация важи само в Германия и може да се различава в други страни.

Биомолекулярни данни

Viruses	Трансформатор: Simian virus 40 (SV40)
Mutational profile	Мутация: Ku80-/-

Работа с

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/L глюкоза, w: 4 mM L-глутамин, w: 3,7 g/L NaHCO3, w: 1,0 mM натриев пируват (номер на изделието на Cytion 820300a)
Supplements	Допълнете средата с 10% FBS
Dissociation Reagent	Accutase

Ku 80-/- клетки | 305258

Subculturing	Отстранете старата среда от адхезивните клетки и ги промийте с PBS, която не съдържа калций и магнезий. За колби T25 използвайте 3-5 ml PBS, а за колби T75 - 5-10 ml. След това покрийте клетките изцяло с Accutase, като използвате 1-2 ml за колби T25 и 2,5 ml за колби T75. Оставете клетките да се инкубират на стайна температура за 8-10 минути, за да се отделят. След инкубацията внимателно разбъркайте клетките с 10 ml среда, за да ги ресуспендирате, след което центрофугирайте при 300xg за 3 минути. Изхвърлете супернатантата, ресуспендирайте клетките в прясна среда и ги прехвърлете в нови колби, които вече съдържат прясна среда.
Freeze medium	Като среда за криоконсервация използваме пълна среда за растеж (включително FBS) + 10% DMSO за адекватна жизнеспособност след размразяване или CM-1 (каталожен номер 800100 на Cytion), която включва оптимизирани осмопротектори и метаболитни стабилизатори за подобряване на възстановяването и намаляване на криоиндуцирания стрес.

Thawing and Culturing Cells

1. Уверете се, че флаконът остава дълбоко замразен при доставката, тъй като клетките се транспортират със сух лед, за да се поддържат оптимални температури по време на транспортирането.

2. При получаване или съхранявайте незабавно криовиолата при температури под -150 °C, за да осигурите запазване на клетъчната цялост, или преминете към стъпка 3, ако е необходимо незабавно култивиране.

3. За незабавно култивиране бързо размразете флакона, като го потопите във водна баня с чиста вода и антимикробен агент с температура 37 °C, като разбърквате внимателно в продължение на 40-60 секунди, докато остане малка ледена бучка.

4. Извършвайте всички следващи стъпки при стерилни условия в аспиратор, като преди отваряне дезинфекцирате криовиолата със 70% етанол.

5. Внимателно отворете дезинфекцирания флакон и прехвърлете клетъчната суспензия в 15 ml центрофужна епруветка, съдържаща 8 ml хранителна среда със стайна температура, като разбъркате внимателно.

6. Центрофугирайте сместа при 300 x g в продължение на 3 минути, за да отделите клетките, и внимателно изхвърлете супернатантата, съдържаща остатъчна замразяваща среда.

7. Внимателно ресуспендирайте клетъчната пелета в 10 ml прясна хранителна среда. За адхезивни клетки разделете суспензията между две колби T25; за суспензионни култури прехвърлете цялата среда в една колба T25, за да стимулирате ефективното взаимодействие и растеж на клетките.

8. Придържайте се към установените протоколи за субкултивиране за непрекъснат растеж и поддържане на клетъчната линия, като гарантирате надеждни експериментални резултати.

Ku 80-/- клетки | 305258

Incubation Atmosphere	37°C, 5%$_{CO2}$, овлажнена атмосфера.
Flask Coating	Няма
Freezing Procedure	Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително -78 °C по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.
Shipping Conditions	Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително -78 °C по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.
Storage Conditions	За дълготрайно съхранение поставете флаконите в течен азот в парна фаза при температура около -150 до -196 °C. Съхранението при -80 °C е приемливо само като кратък междинен етап преди прехвърлянето в течен азот.

Контрол на качеството и молекулярен анализ

Sterility	Замърсяването с микоплазма се изключва както чрез PCR-базирани анализи, така и чрез луминесцентни методи за откриване на микоплазма. За да се гарантира, че няма бактериално, гъбично или дрождево замърсяване, клетъчните култури се подлагат на ежедневни визуални проверки.