Product sheet

Κύτταρα Ku 80-/- | 305258

Γενικές πληροφορίες

Description	Τα κύτταρα Ku80-/- MEF (Mouse Embryonic Fibroblast) είναι γενετικά τροποποιημένα ινοβλαστικά κύτταρα που προέρχονται από ποντίκια από τα οποία λείπει το γονίδιο Ku80 (XRCC5). Η πρωτεΐνη Ku80, σε συνδυασμό με την Ku70, σχηματίζει το ετεροδιμερές Ku, το οποίο είναι απαραίτητο για το μονοπάτι της επιδιόρθωσης των σπασιμάτων διπλής έλικας (DSB) του DNA που δεν είναι ομόλογα συνδεδεμένα (NHEJ). Η απουσία της Ku80 σε αυτά τα κύτταρα μειώνει την ικανότητά τους να επιδιορθώνουν αποτελεσματικά τα DSBs, καθιστώντας τα ένα πολύτιμο μοντέλο για τη μελέτη του ρόλου του μονοπατιού NHEJ στη γονιδιωματική σταθερότητα, τους μηχανισμούς επιδιόρθωσης του DNA και τη βιολογία του καρκίνου. Τα κύτταρα Ku80-/- MEF παρουσιάζουν αυξημένη ευαισθησία στην ιονίζουσα ακτινοβολία και σε άλλους παράγοντες που βλάπτουν το DNA λόγω της μειωμένης ικανότητας επιδιόρθωσης DSB. Αυτά τα κύτταρα τείνουν επίσης να συσσωρεύουν χρωμοσωμικές ανωμαλίες και να εμφανίζουν γονιδιωματική αστάθεια. Η έλλειψη του Ku80 επηρεάζει όχι μόνο την επιδιόρθωση του DNA αλλά και άλλες κυτταρικές διεργασίες όπως ο ανασυνδυασμός V(D)J, ο οποίος είναι ζωτικής σημασίας για την ανάπτυξη ενός ποικίλου ρεπερτορίου αντισωμάτων και υποδοχέων Τ-κυττάρων στο ανοσοποιητικό σύστημα. Η έρευνα με τη χρήση κυττάρων Ku80/- MEF παρείχε σημαντικές πληροφορίες για τους μοριακούς μηχανισμούς της NHEJ και τις ευρύτερες επιπτώσεις της ελαττωματικής επιδιόρθωσης του DNA. Οι μελέτες αυτές είναι ζωτικής σημασίας για την κατανόηση της ανάπτυξης του καρκίνου και άλλων ασθενειών που σχετίζονται με γονιδιωματική αστάθεια. Επιπλέον, βοηθούν στη διερεύνηση πιθανών θεραπευτικών στόχων για την ενίσχυση της επιδιόρθωσης του DNA στα καρκινικά κύτταρα, βελτιώνοντας έτσι την αποτελεσματικότητα των θεραπειών του καρκίνου που βασίζονται στην πρόκληση βλάβης του DNA στα καρκινικά κύτταρα.
Organism	Ποντίκι
Tissue	Έμβρυο
Disease	Φυσιολογικοί εμβρυϊκοί ινοβλάστες ποντικού (με απώλεια των γονιδίων Ku80/XRCC5· αθανατοποιημένοι με SV40· με ανεπάρκεια NHEJ)
Metastatic site	Δεν ισχύει (αθανατοποιημένα MEF· δεν πρόκειται για κλινικό δείγμα όγκου)
Applications	Έρευνα για την επιδιόρθωση του DNA μέσω του μηχανισμού NHEJ· λειτουργία των Ku80/XRCC5· επιδιόρθωση διπλών θραυσμάτων (DSB) του DNA· μοντελοποίηση γονιδιωματικής αστάθειας· ευαισθησία στην ακτινοβολία· ανασυνδυασμός V(D)J· βιολογία του καρκίνου· δοκιμές γονιδιοτοξικότητας· απόκριση σε βλάβες του DNA
Synonyms	Ku80-/- MEF

Χαρακτηριστικά

Age	12-13 εμβρυϊκές ημέρες
Gender	Απροσδιόριστο

Κύτταρα Ku 80-/- | 305258

Ethnicity	Δεν ισχύει (γραμμή κυττάρων ποντικού)
Morphology	Ινοβλάστες
Cell type	Ινοβλάστες
Growth properties	Προσκολλημένο

Ρυθμιστικά δεδομένα

Citation	Ku 80-/- (αριθμός καταλόγου Cytion 305258)
Biosafety level	2
NCBI_TaxID	10090
CellosaurusAccession	CVCL_UJ16
GMO Status	GMO-S1: Αυτή η σειρά MEF φέρει ομόζυγη απενεργοποίηση του γονιδίου Ku80 (XRCC5) και αθανατοποίηση μέσω του μεγάλου Τ-αντιγόνου του SV40. Το τρανσγονίδιο του SV40 έχει ενσωματωθεί σταθερά. Αυτή η ταξινόμηση ισχύει μόνο στη Γερμανία και ενδέχεται να διαφέρει σε άλλες χώρες.

Βιομοριακά δεδομένα

Viruses	Μετασχηματιστής: Simian virus 40 (SV40)
Mutational profile	Μετάλλαξη: Ku80-/-

Χειρισμός

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/L γλυκόζη, w: 4 mM L-γλουταμίνη, w: 3,7 g/L NaHCO3, w: 1,0 mM πυρουβικό νάτριο (αριθμός άρθρου Cytion 820300a)
Supplements	Συμπληρώστε το μέσο με 10% FBS
Dissociation Reagent	Accutase

Κύτταρα Ku 80-/- | 305258

Subculturing	Αφαιρέστε το παλιό μέσο από τα προσκολλημένα κύτταρα και πλύντε τα με PBS που δεν περιέχει ασβέστιο και μαγνήσιο. Για φιάλες T25, χρησιμοποιήστε 3-5 ml PBS και για φιάλες T75, χρησιμοποιήστε 5-10 ml. Στη συνέχεια, καλύψτε πλήρως τα κύτταρα με Accutase, χρησιμοποιώντας 1-2 ml για φιάλες T25 και 2,5 ml για φιάλες T75. Αφήστε τα κύτταρα να επωαστούν σε θερμοκρασία δωματίου για 8-10 λεπτά για να αποκολληθούν. Μετά την επώαση, αναμείξτε απαλά τα κύτταρα με 10 ml μέσου για να ανασυσταθούν και, στη συνέχεια, φυγοκεντρίστε στα 300xg για 3 λεπτά. Απορρίψτε το υπερκείμενο υγρό, ανασυστάστε τα κύτταρα σε φρέσκο μέσο και μεταφέρετέ τα σε νέες φιάλες που περιέχουν ήδη φρέσκο μέσο.
Freeze medium	Ως μέσο κρυοσυντήρησης, χρησιμοποιούμε πλήρες μέσο ανάπτυξης (συμπεριλαμβανομένου του FBS) + 10% DMSO για επαρκή βιωσιμότητα μετά την απόψυξη, ή CM-1 (αριθμός καταλόγου Cytion 800100), το οποίο περιλαμβάνει βελτιστοποιημένα ωσμοπροστατευτικά και μεταβολικούς σταθεροποιητές για την ενίσχυση της ανάκαμψης και τη μείωση του στρες που προκαλείται από την κρυοσυντήρηση.

Thawing and Culturing Cells

1. Επιβεβαιώστε ότι το φιαλίδιο παραμένει βαθιά παγωμένο κατά την παράδοση, καθώς τα κύτταρα αποστέλλονται σε ξηρό πάγο για να διατηρούνται οι βέλτιστες θερμοκρασίες κατά τη μεταφορά.

2. Κατά την παραλαβή, είτε αποθηκεύστε το κρυοφιαλίδιο αμέσως σε θερμοκρασίες κάτω των -150°C για να διασφαλίσετε τη διατήρηση της κυτταρικής ακεραιότητας, είτε προχωρήστε στο βήμα 3 εάν απαιτείται άμεση καλλιέργεια.

3. Για άμεση καλλιέργεια, αποψύξτε γρήγορα το φιαλίδιο βυθίζοντάς το σε υδατόλουτρο 37°C με καθαρό νερό και αντιμικροβιακό παράγοντα, αναδεύοντας απαλά για 40-60 δευτερόλεπτα μέχρι να παραμείνει ένα μικρό σβόλο πάγου.

4. Εκτελέστε όλα τα επόμενα βήματα υπό αποστειρωμένες συνθήκες σε απορροφητήρα ροής, απολυμαίνοντας το κρυοφιαλίδιο με 70% αιθανόλη πριν από το άνοιγμα.

5. Ανοίξτε προσεκτικά το απολυμασμένο φιαλίδιο και μεταφέρετε το εναιώρημα των κυττάρων σε ένα σωληνάριο φυγοκέντρησης των 15 ml που περιέχει 8 ml θρεπτικού μέσου καλλιέργειας σε θερμοκρασία δωματίου, αναμειγνύοντας απαλά.

6. Φυγοκεντρίστε το μείγμα στα 300 x g για 3 λεπτά για να διαχωριστούν τα κύτταρα και απορρίψτε προσεκτικά το υπερκείμενο που περιέχει το υπόλοιπο μέσο κατάψυξης.

7. Επανασυσσωματώστε απαλά το κυτταρικό σφαιρίδιο σε 10 ml φρέσκου μέσου καλλιέργειας. Για προσκολλημένα κύτταρα, μοιράστε το εναιώρημα σε δύο φιάλες καλλιέργειας T25- για καλλιέργειες εναιωρήματος, μεταφέρετε όλο το μέσο σε μία φιάλη T25 για να προωθήσετε την αποτελεσματική αλληλεπίδραση και ανάπτυξη των κυττάρων.

8. Τηρείτε τα καθιερωμένα πρωτόκολλα υποκαλλιέργειας για τη συνεχή ανάπτυξη και διατήρηση της κυτταρικής σειράς, εξασφαλίζοντας αξιόπιστα πειραματικά αποτελέσματα.

Κύτταρα Ku 80-/- | 305258

Incubation Atmosphere	37°C, 5%$_{CO2}$, υγροποιημένη ατμόσφαιρα.
Flask Coating	Κανένα
Freezing Procedure	Οι κρυοσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των -78 °C καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.
Shipping Conditions	Οι κρυοσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των -78 °C καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.
Storage Conditions	Για μακροχρόνια συντήρηση, τοποθετήστε τα φιαλίδια σε υγρό άζωτο σε φάση ατμών σε θερμοκρασία περίπου -150 έως -196 °C. Η αποθήκευση στους -80 °C είναι αποδεκτή μόνο ως σύντομο ενδιάμεσο βήμα πριν από τη μεταφορά σε υγρό άζωτο.

Έλεγχος ποιότητας και μοριακή ανάλυση

Sterility	Η μόλυνση από μυκόπλασμα αποκλείεται με τη χρήση τόσο των δοκιμασιών που βασίζονται στην PCR όσο και των μεθόδων ανίχνευσης μυκοπλάσματος με βάση τη φωταύγεια. Για να διασφαλιστεί ότι δεν υπάρχει μόλυνση από βακτήρια, μύκητες ή ζύμες, οι κυτταροκαλλιέργειες υποβάλλονται σε καθημερινές οπτικές επιθεωρήσεις.