

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 T-κυττάρων στο ανοσοποιητικό σύστημα.

Η έρευνα με τη χρήση κυττάρων Ku80-/- MEF παρέχει 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

Synonyms Ku80-/- MEF

Χαρακτηριστικά

Age 12-13 εμβρυϊκές ημέρες

Gender Απροσδιόριστο

Morphology Ινοβλάστες

Cell type Ινοβλάστες

Growth properties Προσκολλημένο

Ρυθμιστικά δεδομένα

Κύτταρα Ku 80-/- | 305258**Citation** Ku 80-/- (αριθμός καταλόγου Cytion 305258)**Biosafety level** 2**NCBI_TaxID** 10090**CellosaurusAccession** CVCL_UJ16**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**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.

Κύτταρα Ku 80-/- | 305258**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 κρουφιαλίδιο 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 κρουφιαλίδιο 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.

**Incubation
Atmosphere**

37°C , 5% CO_2 , υγραποιημένη ατμόσφαιρα.

Flask Coating

Για βέλτιστη προσκόλληση και βιωσιμότητα μετά την απόψυξη, συνιστούμε τη χρήση **φιαλών ή πλακών με επικάλυψη κολλαγόνου**.

**Freezing
Procedure**

Οι κρουσυντηρημένες 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.

Κύτταρα Ku 80-/- | 305258

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.

Ποιοτικός έλεγχος / Γενετικό προφίλ / HLA

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.