Product sheet

Клітини Ku 80-/- Клітини | 305258

Загальна інформація

Description	Клітини Ku80-/- MEF (Mouse Embryonic Fibroblast) - це генно-інженерні фібробластні клітини, отримані від мишей, у яких відсутній ген Ku80 (XRCC5). Білок Ku80 разом з Ku70 утворює гетеродимер Ku, який необхідний для негомологічного приєднання кінців (NHEJ) при репарації дволанцюгових розривів ДНК (DSB). Відсутність Ku80 у цих клітинах погіршує їхню здатність ефективно відновлювати дволанцюгові розриви ДНК, що робить їх цінною моделлю для вивчення ролі шляху NHEJ у стабільності геному, механізмах репарації ДНК та біології раку. Клітини Ku80-/- MEF демонструють підвищену чутливість до іонізуючого випромінювання та інших ДНК-пошкоджуючих агентів через їхню порушену здатність до репарації DSB. Ці клітини також схильні до накопичення хромосомних аберацій та геномної нестабільності. Нестача Ku80 впливає не лише на репарацію ДНК, але й на інші клітинні процеси, такі як рекомбінація V(D)J, що має вирішальне значення для розвитку різноманітного репертуару антитіл та Т-клітинних рецепторів в імунній системі. Дослідження з використанням Ku80-/- MEF-клітин дозволили значно глибше зрозуміти молекулярні механізми NHEJ та ширші наслідки дефектної репарації ДНК. Ці дослідження мають вирішальне значення для розуміння розвитку раку та інших захворювань, пов'язаних з геномною нестабільністю. Крім того, вони допомагають у вивченні потенційних терапевтичних мішеней для посилення репарації ДНК у ракових клітинах, тим самим підвищуючи ефективність лікування раку, яке ґрунтується на індукуванні пошкодження ДНК у пухлинних клітинах.
Organism	Миша
Tissue	Ембріон
Disease	Нормальні ембріональні фібробласти миші (з нокаутом генів Ku80/XRCC5; іммортализовані вірусом SV40; з дефіцитом NHEJ)
Metastatic site	Не застосовується (увічнені клітини MEF; це не клінічний зразок пухлини)
Applications	Дослідження репарації ДНК за механізмом NHEJ; функція Ku80/XRCC5; репарація дволанцюгових розривів ДНК (DSB); моделювання геномної нестабільності; радіаційна чутливість; V(D)J-рекомбінація; біологія раку; тестування генотоксичності; реакція на пошкодження ДНК
Synonyms	Ku80-/- MEF

Характеристики

Age	12-13 ембріональних днів
Gender	Не визначено
Ethnicity	Не застосовується (клітинна лінія миші)

Клітини Ku 80-/- Клітини | 305258

Morphology	Фібробласт
Cell type	Фібробласт
Growth properties	Адепт

Нормативні дані

Citation	Ku 80-/- (номер за каталогом Cytion 305258)
Biosafety level	2
NCBI_TaxID	10090
CellosaurusAccession	CVCL_UJ16
GMO Status	GMO-S1: Ця лінія MEF має гомозиготний нокаут гена Ku80 (XRCC5) та імунізацію за допомогою великого Т-антигену вірусу SV40. Трансген SV40 інтегрований стабільно. Ця класифікація застосовується лише на території Німеччини і може відрізнятися в інших країнах.

Біомолекулярні дані

Viruses	Трансформант: вірус сибірки 40 (SV40)
Mutational profile	Мутація: Ku80-/-

Обробка

Culture Medium	ДМЕМ, w: 4,5 г/л Глюкоза, w: 4 мМ L-глутамін, w: 3,7 г/л NaHCO3, w: 1,0 мМ піруват натрію (цит. номер 820300a)
Supplements	Додайте до середовища 10% FBS
Dissociation Reagent	Аккутаза

Клітини Ku 80-/- Клітини | 305258

Subculturing	Видаліть старе середовище з прилиплих клітин і промийте їх PBS, в якому бракує кальцію і магнію. Для колб T25 використовуйте 3-5 мл PBS, а для колб T75 - 5-10 мл. Потім повністю покрийте клітини аккутазою, використовуючи 1-2 мл для колб T25 і 2,5 мл для колб T75. Залиште клітини інкубуватися при кімнатній температурі протягом 8-10 хвилин, щоб відокремити їх. Після інкубації обережно змішайте клітини з 10 мл середовища, щоб ресуспендувати їх, а потім центрифугуйте при 300xg протягом 3 хвилин. Викиньте надосадову рідину, ресуспендуйте клітини у свіжому середовищі та перенесіть їх у нові колби, які вже містять свіже середовище.
Freeze medium	Як середовище кріоконсервування ми використовуємо повне живильне середовище (включаючи FBS) + 10% ДМСО для адекватної життєздатності після відтавання або CM-1 (номер за каталогом Cytion 800100), до складу якого входять оптимізовані осмопротектори та метаболічні стабілізатори для прискорення відновлення та зменшення кріоіндукованого стресу.

Thawing and Culturing Cells

1. Переконайтеся, що віал залишається глибоко замороженим після доставки, оскільки клітини транспортуються на сухому льоду для підтримання оптимальної температури під час транспортування.

2. Після отримання негайно зберігайте кріовіал при температурі нижче -150°C, щоб забезпечити збереження клітинної цілісності, або перейдіть до кроку 3, якщо потрібне негайне культивування.

3. Для негайного культивування швидко розморозьте віал, зануривши його у водяну баню з чистою водою і антимікробним засобом при температурі 37°C, обережно перемішуючи протягом 40-60 секунд, поки не залишиться невелика крижана грудка.

4. Всі наступні кроки виконуйте в стерильних умовах у проточній витяжній шафі, дезінфікуючи кріовіал 70% етанолом перед відкриттям.

5. Обережно відкрийте продезінфікований флакон і перенесіть клітинну суспензію в 15 мл центрифужну пробірку, що містить 8 мл культурального середовища кімнатної температури, обережно перемішуючи.

6. Відцентрифугуйте суміш при 300 x g протягом 3 хвилин, щоб відокремити клітини, і обережно викиньте надосадову рідину, що містить залишки заморожувального середовища.

7. Обережно ресуспендуйте осад клітин у 10 мл свіжого культурального середовища. Для адгезивних клітин розділіть суспензію між двома культуральними колбами T25; для суспензійних культур перенесіть все середовище в одну колбу T25, щоб сприяти ефективній взаємодії та росту клітин.

8. Дотримуйтесь встановлених протоколів субкультивування для продовження росту і підтримання клітинної лінії, забезпечуючи надійні результати експерименту.

Клітини Ku 80-/- Клітини | 305258

Incubation Atmosphere	37°C, 5% $_{CO2}$, волога атмосфера.
Flask Coating	Ні
Freezing Procedure	Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевіреній ізольованій упаковці з достатньою кількістю холодоагенту для підтримання температури приблизно -78 °C під час транспортування. При отриманні негайно огляньте контейнер і негайно перемістіть віали у відповідне місце для зберігання.
Shipping Conditions	Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевіреній ізольованій упаковці з достатньою кількістю холодоагенту для підтримання температури приблизно -78 °C під час транспортування. При отриманні негайно огляньте контейнер і негайно перемістіть віали у відповідне місце для зберігання.
Storage Conditions	Для тривалого зберігання помістіть флакони в парофазний рідкий азот при температурі від -150 до -196 °C. Зберігання при -80 °C допустиме лише як короткий проміжний етап перед перенесенням у рідкий азот.

Контроль якості та молекулярний аналіз

Sterility	Зараження мікоплазмою виключається за допомогою аналізів на основі ПЛР та люмінесцентних методів виявлення мікоплазми. Щоб переконатися у відсутності бактеріального, грибкового або дріжджового забруднення, клітинні культури піддаються щоденному візуальному контролю.