

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

Synonyms Ku80-/- MEF

Характеристики

Age 12-13 ембріональних днів

Gender Не визначено

Morphology Фібробласт

Cell type Фібробласт

Growth properties Адепт

Нормативні дані

Клітини Ku 80-/- Клітини | 305258

Citation Ku 80-/- (номер за каталогом Cytion 305258)**Biosafety level** 2**NCBI_TaxID** 10090**CellosaurusAccession** CVCL_UJ16

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**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.

Клітини Ku 80-/- Клітини | 305258**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, зануливши 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 $300 \times g$ 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. Дотримуйтеся встановлених протоколів субкультивування для продовження росту і підтримання клітинної лінії, забезпечуючи надійні результати експерименту.

**Incubation
Atmosphere**

37°C , 5% CO_2 , 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.

Клітини Ku 80-/- Клітини | 305258

Shipping Conditions

Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевірених ізольованих 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 / Генетичний профіль / HLA

Sterility

Зараження мікоплазмою виключається за допомогою аналізів на основі ПЛР та люмінесцентних методів виявлення мікоплазми.

Щоб переконатися у відсутності бактеріального, грибового або дріжджового забруднення, клітинні культури піддаються щоденному візуальному контролю.