

Ku 80-/- celler | 305258**Generel information****Description**

Ku80-/- MEF-celler (Mouse Embryonic Fibroblast) er genetisk manipulerede fibroblastceller fra mus, der mangler Ku80-genet (XRCC5). Ku80-proteinet danner sammen med Ku70 Ku-heterodimeren, som er afgørende for den non-homologe end joining (NHEJ)-vej til reparation af DNA-dobbeltstrengsbrud (DSB). Fraværet af Ku80 i disse celler forringer deres evne til effektivt at reparere DSB'er, hvilket gør dem til en værdifuld model til undersøgelse af NHEJ-vejens rolle i genomisk stabilitet, DNA-reparationsmekanismer og kræftbiologi.

Ku80-/- MEF-celler udviser øget følsomhed over for ioniserende stråling og andre DNA-skadelige stoffer på grund af deres kompromitterede DSB-reparationskapacitet. Disse celler har også en tendens til at akkumulere kromosomafvigelser og udvise genomisk ustabilitet. Manglen på Ku80 påvirker ikke kun DNA-reparation, men også andre cellulære processer såsom V(D)J-rekombination, som er afgørende for udviklingen af et mangfoldigt repertoire af antistoffer og T-cellereceptorer i immunsystemet.

Forskning med Ku80-/- MEF-celler har givet betydelig indsigt i de molekylære mekanismer i NHEJ og de bredere konsekvenser af mangelfuld DNA-reparation. Disse undersøgelser er afgørende for at forstå udviklingen af kræft og andre sygdomme, der er forbundet med genomisk ustabilitet. Derudover hjælper de med at udforske potentielle terapeutiske mål for at forbedre DNA-reparation i kræftceller og dermed forbedre effekten af kræftbehandlinger, der er afhængige af at fremkalde DNA-skader i tumorceller.

Organism

Mus

Tissue

Embryo

Disease

Normale embryonale fibroblaster fra mus (Ku80/XRCC5-knockout; SV40-immortaliserede; NHEJ-defekte)

Metastatic site

Ikke relevant (immortaliserede MEF-celler; ikke en klinisk tumorprøve)

Applications

Forskning i NHEJ-DNA-reparation; Ku80/XRCC5-funktion; reparation af dobbeltstrengsbrud (DSB) i DNA; modellering af genomisk ustabilitet; strålefølsomhed; V(D)J-rekombination; kræftbiologi; genotoksicitetstest; respons på DNA-skader

Synonyms

Ku80-/- MEF

Karakteristika**Age**

12-13 fosterdage

Gender

Uspecificeret

Ethnicity

Ikke relevant (musecellelinje)

Morphology

Fibroblast-lignende

Ku 80-/- celler | 305258

Cell type	Fibroblast
Growth properties	Vedhæftende

Regulatoriske data

Citation	Ku 80-/- (Cytion katalognummer 305258)
Biosafety level	2
NCBI_TaxID	10090
CellosaurusAccession	CVCL_UJ16
GMO Status	GMO-S1: Denne MEF-linje bærer en homozygot Ku80 (XRCC5)-knockout og er immortaliseret med SV40-large T-antigenet. SV40-transgenet er stabilt integreret. Denne klassificering gælder kun i Tyskland og kan være anderledes andre steder.

Biomolekylære data

Viruses	Transformant: Simian virus 40 (SV40)
Mutational profile	Mutation: Ku80-/-

Håndtering

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/L glukose, w: 4 mM L-glutamin, w: 3,7 g/L NaHCO ₃ , w: 1,0 mM natriumpyruvat (Cytion artikelnummer 820300a)
Supplements	Suppler mediet med 10% FBS
Dissociation Reagent	Accutase

Subculturing	Fjern det gamle medium fra de klæbende celler, og vask dem med PBS, der ikke indeholder calcium og magnesium. Brug 3-5 ml PBS til T25-kolber og 5-10 ml til T75-kolber. Dæk derefter cellerne helt med Accutase, brug 1-2 ml til T25-kolber og 2,5 ml til T75-kolber. Lad cellerne inkubere ved stuetemperatur i 8-10 minutter for at løsne dem. Efter inkubationen blandes cellerne forsigtigt med 10 ml medium for at resuspendere dem, og centrifugeres derefter ved 300xg i 3 minutter. Kassér supernatanten, resuspender cellerne i frisk medium, og overfør dem til nye kolber, der allerede indeholder frisk medium.
---------------------	---

Ku 80-/- celler | 305258

Freeze medium

Som kryopræserveringsmedium bruger vi komplet vækstmedium (inklusive FBS) + 10 % DMSO for tilstrækkelig levedygtighed efter optøning eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som indeholder optimerede osmobeskyttende stoffer og metaboliske stabilisatorer for at forbedre genopretningen og reducere kryo-induceret stress.

Thawing and Culturing Cells

1. Bekræft, at hætteglasset forbliver dybfrosset ved levering, da cellerne sendes på tør is for at opretholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved modtagelsen skal du enten straks opbevare kryohætteglasset ved temperaturer under -150 °C for at sikre, at cellernes integritet bevares, eller gå videre til trin 3, hvis øjeblikkelig dyrkning er påkrævet.
3. Ved øjeblikkelig dyrkning optøs hætteglasset hurtigt ved at nedsænke det i et 37 °C varmt vandbad med rent vand og et antimikrobielt middel og røre forsigtigt i 40-60 sekunder, indtil der kun er en lille isklump tilbage.
4. Udfør alle efterfølgende trin under sterile forhold i en flowhætte, og desinficer kryovialet med 70 % ethanol, før det åbnes.
5. Åbn forsigtigt det desinficerede hætteglas, og overfør cellesuspensionen til et 15 ml centrifugerør, der indeholder 8 ml kulturmedium ved stuetemperatur, og bland forsigtigt.
6. Centrifuger blandingen ved 300 x g i 3 minutter for at adskille cellerne, og kassér omhyggeligt supernatanten, der indeholder resterende frysemedium.
7. Resuspender forsigtigt cellepelleten i 10 ml frisk dyrkningsmedium. For klæbende celler deles suspensionen mellem to T25-kulturkolber; for suspensionskulturer overføres alt mediet til en T25-kolbe for at fremme effektiv celleinteraktion og -vækst.
8. Overhold etablerede subkulturprotokoller for fortsat vækst og vedligeholdelse af cellelinjen, hvilket sikrer pålidelige eksperimentelle resultater.

Incubation Atmosphere

37°C, 5%_{CO2}, befugt atmosfære.

Flask Coating

Ingen

Freezing Procedure

Kryopræservede cellelinjer sendes på tør is i valideret, isoleret emballage med tilstrækkeligt kølemiddel til at opretholde ca. -78 °C under hele transporten. Ved modtagelse skal beholderen straks inspiceres, og hætteglassene skal straks overføres til passende opbevaring.

Ku 80-/- celler | 305258

Shipping Conditions

Kryopræservede cellelinjer sendes på tøris i valideret, isoleret emballage med tilstrækkeligt kølemiddel til at opretholde ca. -78 °C under hele transporten. Ved modtagelse skal beholderen straks inspiceres, og hætteglassene skal straks overføres til passende opbevaring.

Storage Conditions

For langtidsopbevaring anbringes hætteglas i flydende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Opbevaring ved -80 °C er kun acceptabelt som et kort mellemtrin før overførsel til flydende nitrogen.

Kvalitetskontrol og molekylær analyse

Sterility

Mycoplasma-kontaminering udelukkes ved hjælp af både PCR-baserede assays og luminescensbaserede mycoplasma-detektionsmetoder.

For at sikre, at der ikke er nogen bakterie-, svampe- eller gærforurening, underkastes cellekulturene daglige visuelle inspektioner.