

Ku80-/-Zellen | 305258

Allgemeine Informationen

Description

Ku80-/- MEF-Zellen (Mouse Embryonic Fibroblast) sind gentechnisch veränderte Fibroblastenzellen von Mäusen, denen das Ku80-Gen (XRCC5) fehlt. Das Ku80-Protein bildet zusammen mit Ku70 das Ku-Heterodimer, das für den NHEJ-Weg (Non-Homologous End Joining) der Reparatur von DNA-Doppelstrangbrüchen (DSB) wesentlich ist. Das Fehlen von Ku80 in diesen Zellen beeinträchtigt ihre Fähigkeit, DSBs effektiv zu reparieren, was sie zu einem wertvollen Modell für die Untersuchung der Rolle des NHEJ-Wegs bei der genomischen Stabilität, den DNA-Reparaturmechanismen und der Krebsbiologie macht.

Ku80-/- MEF-Zellen weisen aufgrund ihrer beeinträchtigten DSB-Reparaturkapazität eine erhöhte Empfindlichkeit gegenüber ionisierender Strahlung und anderen DNA-schädigenden Substanzen auf. Diese Zellen neigen auch zur Anhäufung von Chromosomenaberrationen und weisen eine genomische Instabilität auf. Das Fehlen von Ku80 beeinträchtigt nicht nur die DNA-Reparatur, sondern auch andere zelluläre Prozesse wie die V(D)J-Rekombination, die für die Entwicklung eines vielfältigen Repertoires von Antikörpern und T-Zell-Rezeptoren im Immunsystem entscheidend ist.

Die Forschung mit Ku80-/- MEF-Zellen hat wichtige Einblicke in die molekularen Mechanismen von NHEJ und in die weiterreichenden Auswirkungen einer gestörten DNA-Reparatur geliefert. Diese Studien sind entscheidend für das Verständnis der Entstehung von Krebs und anderen Krankheiten, die mit genomischer Instabilität einhergehen. Darüber hinaus helfen sie bei der Erforschung potenzieller therapeutischer Ziele zur Verbesserung der DNA-Reparatur in Krebszellen, wodurch die Wirksamkeit von Krebstherapien verbessert wird, die auf der Induktion von DNA-Schäden in Tumorzellen beruhen.

Organism Maus

Tissue Embryo

Synonyms Ku80-/- MEF

Merkmale

Age 12-13 fötale Tage

Gender Nicht spezifiziert

Morphology Fibroblasten

Cell type Fibroblasten

Growth properties Adhärenz

Regulatorische Daten

Ku 80-/--Zellen | 305258**Citation** Ku 80-/- (Cytion-Katalognummer 305258)**Biosafety level** 2**NCBI_TaxID** 10090**CellosaurusAccession** CVCL_UJ16**Biomolekulare Daten****Viruses** Transformant: Simian-Virus 40 (SV40)**Mutational profile** Mutation: Ku80-/-**Handhabung****Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/L Glucose, w: 4 mM L-Glutamin, w: 3,7 g/L NaHCO₃, w: 1,0 mM Natriumpyruvat (Cytion-Artikelnummer 820300a)**Supplements** Ergänzen Sie das Medium mit 10% FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Entfernen Sie das alte Medium von den adhären Zellen und waschen Sie sie mit PBS, das kein Kalzium und Magnesium enthält. Für T25-Kolben 3-5 ml PBS und für T75-Kolben 5-10 ml verwenden. Anschließend werden die Zellen vollständig mit Accutase bedeckt, wobei 1-2 ml für T25-Kolben und 2,5 ml für T75-Kolben verwendet werden. Lassen Sie die Zellen 8-10 Minuten bei Raumtemperatur inkubieren, um sie abzulösen. Nach der Inkubation mischen Sie die Zellen vorsichtig mit 10 ml Medium, um sie zu resuspendieren, und zentrifugieren sie dann 3 Minuten lang bei 300xg. Den Überstand verwerfen, die Zellen in frischem Medium resuspendieren und in neue Kolben überführen, die bereits frisches Medium enthalten.**Freeze medium** Als Kryokonservierungsmedium verwenden wir komplettes Wachstumsmedium (einschließlich FBS) + 10 % DMSO für eine angemessene Lebensfähigkeit nach dem Auftauen oder CM-1 (Cytion Katalognummer 800100), das optimierte Osmoprotektoren und Stoffwechselstabilisatoren enthält, um die Erholung zu verbessern und kryoinduzierten Stress zu reduzieren.

Ku 80/--Zellen | 305258

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Vergewissern Sie sich, dass das Fläschchen bei der Lieferung tiefgefroren ist, da die Zellen auf Trockeneis versandt werden, um während des Transports optimale Temperaturen zu erhalten.
2. Lagern Sie das Kryofläschchen nach Erhalt entweder sofort bei Temperaturen unter -150 °C, um die Unversehrtheit der Zellen zu gewährleisten, oder fahren Sie mit Schritt 3 fort, wenn eine sofortige Kultivierung erforderlich ist.
3. Für eine sofortige Kultivierung tauen Sie das Fläschchen schnell auf, indem Sie es in ein 37°C warmes Wasserbad mit sauberem Wasser und einem antimikrobiellen Mittel eintauchen und 40-60 Sekunden lang vorsichtig schütteln, bis ein kleiner Eisklumpen zurückbleibt.
4. Führen Sie alle weiteren Schritte unter sterilen Bedingungen in einer Abzugshaube durch und desinfizieren Sie das Kryo-Fläschchen vor dem Öffnen mit 70%igem Ethanol.
5. Das desinfizierte Fläschchen vorsichtig öffnen und die Zellsuspension unter vorsichtigem Mischen in ein 15-ml-Zentrifugenröhrchen mit 8 ml Kulturmedium bei Raumtemperatur überführen.
6. Zentrifugieren Sie das Gemisch 3 Minuten lang bei 300 x g, um die Zellen abzutrennen, und werfen Sie den Überstand mit dem restlichen Gefriermedium vorsichtig.
7. Das Zellpellet vorsichtig in 10 ml frischem Kulturmedium resuspendieren. Bei adhärennten Zellen die Suspension auf zwei T25-Kulturflaschen aufteilen; bei Suspensionskulturen das gesamte Medium in eine T25-Flasche überführen, um eine effektive Zellinteraktion und ein effektives Wachstum zu fördern.
8. Halten Sie sich an die festgelegten Subkulturprotokolle, um ein kontinuierliches Wachstum und die Aufrechterhaltung der Zelllinie zu gewährleisten und zuverlässige Versuchsergebnisse zu erzielen.

**Incubation
Atmosphere**

37°C, 5% CO₂, befeuchtete Atmosphäre.

Flask Coating

Keine

**Freezing
Procedure**

Kryokonservierte Zelllinien werden auf Trockeneis in einer validierten, isolierten Verpackung mit ausreichend Kühlmittel versandt, um während des gesamten Transports eine Temperatur von etwa -78 °C aufrechtzuerhalten. Prüfen Sie den Behälter bei Erhalt sofort und bringen Sie die Fläschchen unverzüglich in ein geeignetes Lager.

Ku 80-/--Zellen | 305258

Shipping Conditions

Kryokonservierte Zelllinien werden auf Trockeneis in einer validierten, isolierten Verpackung mit ausreichend Kühlmittel versandt, um während des gesamten Transports eine Temperatur von etwa -78 °C aufrechtzuerhalten. Prüfen Sie den Behälter bei Erhalt sofort und bringen Sie die Fläschchen unverzüglich in ein geeignetes Lager.

Storage Conditions

Zur Langzeitkonservierung werden die Fläschchen in flüssigem Stickstoff bei etwa -150 bis -196 °C gelagert. Eine Lagerung bei -80 °C ist nur als kurzer Zwischenschritt vor der Überführung in flüssigen Stickstoff akzeptabel.

Qualitätskontrolle / Genetisches Profil / HLA

Sterility

Eine Kontamination mit Mykoplasmen wird sowohl durch PCR-basierte Assays als auch durch lumineszenzbasierte Mykoplasmen-Nachweisverfahren ausgeschlossen.

Um sicherzustellen, dass keine Kontamination mit Bakterien, Pilzen oder Hefen vorliegt, werden die Zellkulturen täglich visuell überprüft.