

Cellules Ku 80-/- | 305258**Informations générales****Description**

Les cellules MEF (Mouse Embryonic Fibroblast) Ku80-/- sont des cellules fibroblastiques génétiquement modifiées provenant de souris dépourvues du gène Ku80 (XRCC5). La protéine Ku80 forme, avec la protéine Ku70, l'hétérodimère Ku, qui est essentiel pour la voie de la jonction non homologue (NHEJ) de la réparation des cassures double brin de l'ADN (DSB). L'absence de Ku80 dans ces cellules réduit leur capacité à réparer efficacement les cassures double brin, ce qui en fait un modèle précieux pour étudier le rôle de la voie NHEJ dans la stabilité génomique, les mécanismes de réparation de l'ADN et la biologie du cancer.

Les cellules MEF Ku80-/- présentent une sensibilité accrue aux radiations ionisantes et à d'autres agents endommageant l'ADN en raison de leur capacité compromise de réparation des CDB. Ces cellules ont également tendance à accumuler des aberrations chromosomiques et à présenter une instabilité génomique. L'absence de Ku80 affecte non seulement la réparation de l'ADN mais aussi d'autres processus cellulaires tels que la recombinaison V(D)J, qui est cruciale pour le développement d'un répertoire diversifié d'anticorps et de récepteurs de cellules T dans le système immunitaire.

Les recherches menées sur les cellules MEF Ku80-/- ont permis de mieux comprendre les mécanismes moléculaires du NHEJ et les implications plus larges d'une réparation défectueuse de l'ADN. Ces études sont cruciales pour comprendre le développement du cancer et d'autres maladies associées à l'instabilité génomique. En outre, elles contribuent à l'exploration de cibles thérapeutiques potentielles pour améliorer la réparation de l'ADN dans les cellules cancéreuses, améliorant ainsi l'efficacité des traitements anticancéreux qui reposent sur l'induction de lésions de l'ADN dans les cellules tumorales.

Organism Souris**Tissue** Embryon**Synonyms** Ku80-/- MEF**Caractéristiques****Age** 12-13 jours fœtaux**Gender** Non spécifié**Morphology** Fibroblaste**Cell type** Fibroblaste**Growth properties** Adhérent**Données réglementaires**

Cellules Ku 80-/- | 305258**Citation** Ku 80-/- (Cytion numéro de catalogue 305258)**Biosafety level** 2**NCBI_TaxID** 10090**CellosaurusAccession** CVCL_UJ16**Données biomoléculaires****Viruses** Transformant : virus simien 40 (SV40)**Mutational profile** Mutation : Ku80-/-**Manipulation****Culture Medium** DMEM, w : 4.5 g/L Glucose, w : 4 mM L-Glutamine, w : 3.7 g/L NaHCO₃, w : 1.0 mM Pyruvate de sodium (numéro d'article Cytion 820300a)**Supplements** Compléter le milieu avec 10% de FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Retirer l'ancien milieu des cellules adhérentes et les laver avec du PBS dépourvu de calcium et de magnésium. Pour les flacons T25, utiliser 3-5 ml de PBS, et pour les flacons T75, 5-10 ml. Ensuite, recouvrir complètement les cellules avec Accutase, en utilisant 1 à 2 ml pour les flacons T25 et 2,5 ml pour les flacons T75. Laisser les cellules incuber à température ambiante pendant 8-10 minutes pour les détacher. Après incubation, mélanger délicatement les cellules avec 10 ml de milieu pour les remettre en suspension, puis centrifuger à 300xg pendant 3 minutes. Jeter le surnageant, remettre les cellules en suspension dans du milieu frais et les transférer dans de nouveaux flacons contenant déjà du milieu frais.**Freeze medium** Comme milieu de cryoconservation, nous utilisons un milieu de croissance complet (comprenant du FBS) + 10 % de DMSO pour une viabilité adéquate après décongélation, ou CM-1 (numéro de catalogue 800100 de Cytion), qui comprend des osmoprotectants et des stabilisateurs métaboliques optimisés pour améliorer la récupération et réduire le stress induit par la cryogénéisation.

Cellules Ku 80-/- | 305258

Thawing and Culturing Cells

1. Confirmer que le flacon est toujours congelé à la livraison, car les cellules sont expédiées sur de la glace sèche pour maintenir des températures optimales pendant le transport.
2. Dès réception, soit conserver immédiatement le cryovial à des températures inférieures à -150°C pour assurer la préservation de l'intégrité cellulaire, soit passer à l'étape 3 si une mise en culture immédiate est nécessaire.
3. Pour une mise en culture immédiate, décongeler rapidement le flacon en l'immergeant dans un bain-marie à 37°C avec de l'eau propre et un agent antimicrobien, en l'agitant doucement pendant 40 à 60 secondes jusqu'à ce qu'il ne reste qu'un petit amas de glace.
4. Effectuer toutes les étapes suivantes dans des conditions stériles sous une hotte à flux, en désinfectant le cryovial avec de l'éthanol à 70 % avant de l'ouvrir.
5. Ouvrir soigneusement le flacon désinfecté et transférer la suspension cellulaire dans un tube à centrifuger de 15 ml contenant 8 ml de milieu de culture à température ambiante, en mélangeant doucement.
6. Centrifuger le mélange à 300 x g pendant 3 minutes pour séparer les cellules et jeter soigneusement le surnageant contenant le milieu de congélation résiduel.
7. Remettre doucement en suspension le culot cellulaire dans 10 ml de milieu de culture frais. Pour les cellules adhérentes, répartir la suspension entre deux flacons de culture T25 ; pour les cultures en suspension, transférer tout le milieu dans un seul flacon T25 afin de favoriser une interaction et une croissance efficaces des cellules.
8. Respecter les protocoles de sous-culture établis pour une croissance et un entretien continu de la lignée cellulaire, garantissant ainsi des résultats expérimentaux fiables.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO₂, atmosphère humidifiée.

Flask Coating

Aucun

Freezing Procedure

Les lignées cellulaires cryoconservées sont expédiées sur glace sèche dans des emballages isolés et validés, avec suffisamment de réfrigérant pour maintenir une température d'environ -78 °C tout au long du transport. À la réception, inspecter immédiatement le conteneur et transférer sans délai les flacons dans un lieu de stockage approprié.

Cellules Ku 80-/- | 305258

Shipping Conditions

Les lignées cellulaires cryoconservées sont expédiées sur glace sèche dans des emballages isolés et validés, avec suffisamment de réfrigérant pour maintenir une température d'environ -78 °C tout au long du transport. À la réception, inspecter immédiatement le conteneur et transférer sans délai les flacons dans un lieu de stockage approprié.

Storage Conditions

Pour une conservation à long terme, placer les flacons dans de l'azote liquide en phase vapeur à une température comprise entre -150 et -196 °C environ. Le stockage à -80 °C n'est acceptable qu'en tant qu'étape intermédiaire de courte durée avant le transfert dans l'azote liquide.

Contrôle de qualité / Profil génétique / HLA

Sterility

La contamination par les mycoplasmes est exclue à l'aide de tests basés sur la PCR et de méthodes de détection des mycoplasmes basées sur la luminescence.

Pour s'assurer de l'absence de contamination bactérienne, fongique ou levurienne, les cultures cellulaires font l'objet d'inspections visuelles quotidiennes.