

Cellule Ku 80-/- | 305258**Informazioni generali****Description**

Le cellule MEF (Mouse Embryonic Fibroblast) Ku80-/- sono cellule fibroblastiche geneticamente modificate derivate da topi che mancano del gene Ku80 (XRCC5). La proteina Ku80, insieme a Ku70, forma l'eterodimero Ku, che è essenziale per la via di riparazione della rottura del doppio filamento del DNA (DSB) attraverso la giunzione non omologa (NHEJ). L'assenza di Ku80 in queste cellule compromette la loro capacità di riparare efficacemente le DSB, rendendole un modello prezioso per studiare il ruolo della via NHEJ nella stabilità genomica, nei meccanismi di riparazione del DNA e nella biologia del cancro.

Le cellule MEF Ku80-/- mostrano una maggiore sensibilità alle radiazioni ionizzanti e ad altri agenti dannosi per il DNA, a causa della compromessa capacità di riparazione delle DSB. Queste cellule tendono inoltre ad accumulare aberrazioni cromosomiche e a presentare instabilità genomica. La mancanza di Ku80 influisce non solo sulla riparazione del DNA, ma anche su altri processi cellulari come la ricombinazione V(D)J, fondamentale per lo sviluppo di un repertorio diversificato di anticorpi e recettori delle cellule T nel sistema immunitario.

Le ricerche condotte su cellule MEF Ku80-/- hanno fornito importanti indicazioni sui meccanismi molecolari di NHEJ e sulle implicazioni più ampie della riparazione difettosa del DNA. Questi studi sono fondamentali per comprendere lo sviluppo del cancro e di altre malattie associate all'instabilità genomica. Inoltre, contribuiscono all'esplorazione di potenziali bersagli terapeutici per potenziare la riparazione del DNA nelle cellule tumorali, migliorando così l'efficacia dei trattamenti antitumorali che si basano sull'induzione di danni al DNA nelle cellule tumorali.

Organism

Mouse

Tissue

Embrione

Disease

Fibroblasti embrionali normali di topo (knockout per Ku80/XRCC5; immortalizzati con SV40; privi di NHEJ)

Metastatic site

Non applicabile (MEF immortalizzati; non si tratta di un campione tumorale clinico)

Applications

Ricerca sulla riparazione del DNA tramite NHEJ; funzione di Ku80/XRCC5; riparazione delle rotture a doppio filamento (DSB) del DNA; modellizzazione dell'instabilità genomica; sensibilità alle radiazioni; ricombinazione V(D)J; biologia del cancro; test di genotossicità; risposta al danno al DNA

Synonyms

Ku80-/- MEF

Caratteristiche**Age**

12-13 giorni fetali

Gender

Non specificato

Ethnicity

Non applicabile (linea cellulare di topo)

Cellule Ku 80-/- | 305258**Morphology** Simile a un fibroblasto**Cell type** Fibroblasti**Growth properties** Aderente**Dati normativi****Citation** Ku 80-/- (numero di catalogo Cytion 305258)**Biosafety level** 2**NCBI_TaxID** 10090**CellosaurusAccession** CVCL_UJ16**GMO Status** GMO-S1: Questa linea MEF presenta un knockout omozigote del gene Ku80 (XRCC5) e un'immortalizzazione mediante l'antigene T grande dell'SV40. Il transgene SV40 è integrato in modo stabile. Questa classificazione è valida solo in Germania e potrebbe differire in altri paesi.**Dati biomolecolari****Viruses** Trasformante: Simian virus 40 (SV40)**Mutational profile** Mutazione: Ku80-/-**Manipolazione****Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/L di glucosio, w: 4 mM di L-Glutammina, w: 3,7 g/L di NaHCO₃, w: 1,0 mM di piruvato di sodio (articolo Cytion numero 820300a)**Supplements** Integrare il terreno di coltura con il 10% di FBS**Dissociation Reagent** Accutase

Cellule Ku 80-/- | 305258**Subculturing**

Rimuovere il vecchio terreno dalle cellule aderenti e lavarle con PBS privo di calcio e magnesio. Per le fiasche T25, utilizzare 3-5 ml di PBS e per le fiasche T75, 5-10 ml. Quindi, coprire completamente le cellule con Accutase, utilizzando 1-2 ml per le fiasche T25 e 2,5 ml per le fiasche T75. Lasciare incubare le cellule a temperatura ambiente per 8-10 minuti per staccarle. Dopo l'incubazione, mescolare delicatamente le cellule con 10 ml di terreno per risospenderle, quindi centrifugare a 300xg per 3 minuti. Scartare il surnatante, risospendere le cellule in terreno fresco e trasferirle in nuove fiasche contenenti terreno fresco.

Freeze medium

Come terreno di crioconservazione, utilizziamo un terreno di crescita completo (incluso FBS) + 10% DMSO per un'adeguata vitalità post-scongellamento, o CM-1 (numero di catalogo Cytion 800100), che include osmoprotettori e stabilizzatori metabolici ottimizzati per migliorare il recupero e ridurre lo stress crio-indotto.

Thawing and Culturing Cells

1. Verificare che la fiala rimanga profondamente congelata al momento della consegna, poiché le cellule vengono spedite con ghiaccio secco per mantenere le temperature ottimali durante il trasporto.
2. Al ricevimento, conservare immediatamente la criovial a temperature inferiori a -150°C per garantire la conservazione dell'integrità cellulare, oppure procedere al punto 3 se è necessaria una coltura immediata.
3. Per la coltura immediata, scongelare rapidamente la fiala immergendola in un bagno d'acqua a 37°C con acqua pulita e un agente antimicrobico, agitando delicatamente per 40-60 secondi finché non rimane un piccolo grumo di ghiaccio.
4. Eseguire tutte le fasi successive in condizioni di sterilità in una cappa a flusso, disinfettando la criovial con etanolo al 70% prima dell'apertura.
5. Aprire con cautela la fiala disinfettata e trasferire la sospensione cellulare in una provetta da centrifuga da 15 ml contenente 8 ml di terreno di coltura a temperatura ambiente, mescolando delicatamente.
6. Centrifugare la miscela a 300 x g per 3 minuti per separare le cellule e scartare con cura il surnatante contenente il terreno di coltura residuo.
7. Risospendere delicatamente il pellet cellulare in 10 ml di terreno di coltura fresco. Per le cellule aderenti, dividere la sospensione tra due fiasche di coltura T25; per le colture in sospensione, trasferire tutto il terreno in una fiasca T25 per promuovere l'interazione e la crescita delle cellule.
8. Attenersi ai protocolli di subcoltura stabiliti per la crescita e il mantenimento continui della linea cellulare, garantendo risultati sperimentali affidabili.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO_2 , atmosfera umidificata.

Flask Coating

Nessuno

Cellule Ku 80-/- | 305258

Freezing Procedure

Le linee cellulari crioconservate vengono spedite su ghiaccio secco in confezioni isolate e convalidate, con una quantità di refrigerante sufficiente a mantenere circa -78 °C durante il trasporto. Al ricevimento, ispezionare immediatamente il contenitore e trasferire immediatamente le fiale in un luogo di conservazione appropriato.

Shipping Conditions

Le linee cellulari crioconservate vengono spedite su ghiaccio secco in confezioni isolate e convalidate, con una quantità di refrigerante sufficiente a mantenere circa -78 °C durante il trasporto. Al ricevimento, ispezionare immediatamente il contenitore e trasferire immediatamente le fiale in un luogo di conservazione appropriato.

Storage Conditions

Per la conservazione a lungo termine, porre le fiale in azoto liquido in fase vapore a una temperatura compresa tra -150 e -196 °C circa. La conservazione a -80 °C è accettabile solo come breve fase intermedia prima del trasferimento in azoto liquido.

Controllo qualità e analisi molecolare

Sterility

La contaminazione da micoplasma viene esclusa utilizzando sia saggi basati sulla PCR sia metodi di rilevamento del micoplasma basati sulla luminescenza.

Per garantire l'assenza di contaminazione batterica, fungina o da lieviti, le colture cellulari sono sottoposte a ispezioni visive quotidiane.