

Ku80^{-/-} cellen | 305258

Algemene informatie

Description

Ku80^{-/-} MEF-cellen (Mouse Embryonic Fibroblast) zijn genetisch gemanipuleerde fibroblastcellen afkomstig van muizen die het Ku80-gen (XRCC5) missen. Het Ku80 eiwit vormt samen met Ku70 de Ku heterodimer, die essentieel is voor de non-homologous end joining (NHEJ) route van DNA dubbelstrengsbreuk (DSB) reparatie. De afwezigheid van Ku80 in deze cellen vermindert hun vermogen om DSB's effectief te repareren, waardoor ze een waardevol model zijn voor het bestuderen van de rol van de NHEJ pathway in genomische stabiliteit, DNA-herstelmechanismen en kankerbiologie.

Ku80^{-/-} MEF-cellen vertonen een verhoogde gevoeligheid voor ioniserende straling en andere DNA-beschadigende stoffen vanwege hun gecompromitteerde DSB-herstelcapaciteit. Deze cellen hebben ook de neiging om chromosoomafwijkingen te accumuleren en vertonen genomische instabiliteit. Het gebrek aan Ku80 beïnvloedt niet alleen DNA-herstel, maar ook andere cellulaire processen zoals V(D)J recombinitie, wat cruciaal is voor de ontwikkeling van een divers repertoire aan antilichamen en T-celreceptoren in het immuunsysteem.

Onderzoek met Ku80^{-/-} MEF-cellen heeft belangrijke inzichten opgeleverd in de moleculaire mechanismen van NHEJ en de bredere implicaties van defect DNA-herstel. Deze studies zijn cruciaal voor het begrijpen van de ontwikkeling van kanker en andere ziekten die geassocieerd worden met genomische instabiliteit. Daarnaast helpen ze bij de verkenning van potentiële therapeutische doelen voor het verbeteren van DNA-herstel in kankercellen, waardoor de effectiviteit van kankerbehandelingen die afhankelijk zijn van het induceren van DNA-schade in tumorcellen wordt verbeterd.

Organism Muis

Tissue Embryo

Synonyms Ku80^{-/-} MEF

Kenmerken

Age 12-13 foetale dagen

Gender Ongespecificeerd

Morphology Fibroblast

Cell type Fibroblast

Growth properties Aanhangend

Regelgevende gegevens

Ku 80-/- cellen | 305258**Citation** Ku 80-/- (Cytion catalogusnummer 305258)**Biosafety level** 2**NCBI_TaxID** 10090**CellosaurusAccession** CVCL_UJ16**Biomoleculaire gegevens****Viruses** Transformant: Simian virus 40 (SV40)**Mutational profile** Mutatie: Ku80-/-**Omgaan met****Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/L Glucose, w: 4 mM L-Glutamine, w: 3,7 g/L NaHCO₃, w: 1,0 mM Natriumpyruvaat (Cytion artikelnummer 820300a)**Supplements** Vul het medium aan met 10% FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Verwijder het oude medium van de adherente cellen en was ze met PBS zonder calcium en magnesium. Gebruik voor T25-flesjes 3-5 ml PBS en voor T75-flesjes 5-10 ml. Bedek de cellen vervolgens volledig met Accutase, met 1-2 ml voor T25-flesjes en 2,5 ml voor T75-flesjes. Laat de cellen gedurende 8-10 minuten bij kamertemperatuur incuberen om ze los te maken. Na incubatie de cellen voorzichtig mengen met 10 ml medium om ze te resuspenden en vervolgens centrifugeren bij 300xg gedurende 3 minuten. Gooi het supernatant weg, resuspendeer de cellen in vers medium en breng ze over in nieuwe kolven die al vers medium bevatten.**Freeze medium** Als cryoconserveringsmedium gebruiken we volledig groeimedium (inclusief FBS) + 10% DMSO voor voldoende levensvatbaarheid na het ontdooien, of CM-1 (Cytion catalogusnummer 800100), dat geoptimaliseerde osmoprotectanten en metabolische stabilisatoren bevat om het herstel te verbeteren en door cryo geïnduceerde stress te verminderen.

Ku 80-/- cellen | 305258

Thawing and Culturing Cells

1. Controleer of de flacon bij levering diepgevroren blijft, aangezien de cellen op droog ijs worden verzonden om optimale temperaturen tijdens het transport te behouden.
2. Bewaar het cryoflesje na ontvangst onmiddellijk bij temperaturen lager dan $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ om de integriteit van de cellen te behouden, of ga verder met stap 3 als onmiddellijke kweek vereist is.
3. Voor onmiddellijke kweek: ontdooi de flacon snel door deze onder te dompelen in een waterbad van $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ met schoon water en een antimicrobieel middel, waarbij u 40-60 seconden zachtjes schudt totdat er een klein ijsklontje overblijft.
4. Voer alle volgende stappen uit onder steriele omstandigheden in een stromingskap en desinfecteer de cryoflacon met 70% ethanol voordat deze wordt geopend.
5. Open voorzichtig de gedesinfecteerde flacon en breng de celsuspensie over in een centrifugebuis van 15 ml met 8 ml kweekmedium op kamertemperatuur en meng voorzichtig.
6. Centrifugeer het mengsel gedurende 3 minuten bij $300 \times g$ om de cellen te scheiden en gooi het supernatant met resterend vriesmedium voorzichtig weg.
7. Resuspendeer de celpellet voorzichtig in 10 ml vers kweekmedium. Verdeel voor adherente cellen de suspensie over twee T25-kweekkolven; breng voor suspensiekweken al het medium over in één T25-kweekkolf om effectieve celinteractie en -groei te bevorderen.
8. Houd u aan de vastgestelde subcultuurprotocollen voor continue groei en onderhoud van de cellijn, om betrouwbare experimentele resultaten te garanderen.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , bevochtigde atmosfeer.

Flask Coating

Geen

Freezing Procedure

Gecryopreserveerde cellijnen worden verzonden op droog ijs in gevalideerde, geïsoleerde verpakkingen met voldoende koelmiddel om gedurende het transport ongeveer $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ te handhaven. Inspecteer de verpakking onmiddellijk na ontvangst en breng de flacons onverwijld over naar de juiste opslagplaats.

Shipping Conditions

Gecryopreserveerde cellijnen worden verzonden op droog ijs in gevalideerde, geïsoleerde verpakkingen met voldoende koelmiddel om gedurende het transport ongeveer $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ te handhaven. Inspecteer de verpakking onmiddellijk na ontvangst en breng de flacons onverwijld over naar de juiste opslagplaats.

Ku 80-/- cellen | 305258

**Storage
Conditions**

Voor langdurige bewaring plaatst u flesjes in vloeibare stikstof in dampfase bij ongeveer -150 tot -196 °C. Opslag bij -80 °C is alleen aanvaardbaar als korte tussenstap vóór overbrenging naar vloeibare stikstof.

Kwaliteitscontrole / Genetisch profiel / HLA

Sterility

Mycoplasma-verontreiniging wordt uitgesloten met zowel PCR-gebaseerde testen als op luminescentie gebaseerde mycoplasma-detectiemethoden.

Om er zeker van te zijn dat er geen besmetting is met bacteriën, schimmels of gisten, worden de celculturen dagelijks onderworpen aan visuele inspecties.