

Ku 80-/-celler | 305258

Generell informasjon

Description

Ku80-/- MEF-celler (Mouse Embryonic Fibroblast) er genmanipulerte fibroblastceller fra mus som mangler Ku80-genet (XRCC5). Ku80-proteinet danner sammen med Ku70 Ku-heterodimeren, som er essensiell for den ikke-homologe endeforbindelsen (NHEJ) ved reparasjon av DNA-dobbeltstrengbrudd (DSB). Fraværet av Ku80 i disse cellene svekker deres evne til å reparere DSBs effektivt, noe som gjør dem til en verdifull modell for å studere NHEJ-veiens rolle i genomisk stabilitet, DNA-reparasjonsmekanismer og kreftbiologi.

Ku80-/- MEF-celler viser økt følsomhet for ioniserende stråling og andre DNA-skadelige stoffer på grunn av deres svekkede evne til å reparere DSB. Disse cellene har også en tendens til å akkumulere kromosomavvik og utvise genomisk ustabilitet. Mangelen på Ku80 påvirker ikke bare DNA-reparasjon, men også andre cellulære prosesser som V(D)J-rekombinasjon, som er avgjørende for utviklingen av et mangfoldig repertoar av antistoffer og T-cellerreseptorer i immunsystemet.

Forskning på Ku80-/- MEF-celler har gitt oss betydelig innsikt i de molekylære mekanismene bak NHEJ og de mer generelle konsekvensene av mangelfull DNA-reparasjon. Disse studiene er avgjørende for å forstå utviklingen av kreft og andre sykdommer som er forbundet med genomisk ustabilitet. I tillegg bidrar de til å utforske potensielle terapeutiske mål for å forbedre DNA-reparasjon i kreftceller, og dermed forbedre effekten av kreftbehandlinger som baserer seg på å indusere DNA-skader i tumorceller.

Organism Mus

Tissue Embryo

Synonyms Ku80-/- MEF

Kjennetegn

Age 12-13 fosterdager

Gender Uspesifisert

Morphology Fibroblast

Cell type Fibroblast

Growth properties Vedhengende

Regulatoriske data

Citation Ku 80-/- (Cytion-katalognummer 305258)

Ku 80-/-celler | 305258**Biosafety level** 2**NCBI_TaxID** 10090**CellosaurusAccession** CVCL_UJ16**Biomolekylære data****Viruses** Transformant: Simian virus 40 (SV40)**Mutational profile** Mutasjon: Ku80-/-**Håndtering****Culture Medium** DMEM, m: 4,5 g/L glukose, m: 4 mM L-glutamin, m: 3,7 g/L NaHCO₃, m: 1,0 mM natriumpyruvat (Cytion artikkelnummer 820300a)**Supplements** Suppler mediet med 10 % FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Fjern det gamle mediet fra de adherente cellene, og vask dem med PBS uten kalsium og magnesium. Bruk 3-5 ml PBS for T25-kolber og 5-10 ml for T75-kolber. Dekk deretter cellene helt med Accutase, med 1-2 ml for T25-kolber og 2,5 ml for T75-kolber. La cellene inkubere i romtemperatur i 8-10 minutter for å løsne dem. Etter inkubasjon blandes cellene forsiktig med 10 ml medium for å resuspendere dem, og sentrifuger deretter ved 300xg i 3 minutter. Kast supernatanten, resuspender cellene i nytt medium, og overfør dem til nye kolber som allerede inneholder nytt medium.**Freeze medium** Som kryopreserveringsmedium bruker vi komplett vekstmedium (inkludert FBS) + 10 % DMSO for tilstrekkelig levedyktighet etter opptining, eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som inneholder optimaliserte osmobyttende midler og metabolske stabilisatorer for å øke utvinningen og redusere kryoundusert stress.

Ku 80-/-celler | 305258

Thawing and Culturing Cells

1. Kontroller at hetteglasset er dypfrysst ved levering, ettersom cellene sendes på tørris for å opprettholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved mottak skal hetteglasset enten oppbevares umiddelbart ved temperaturer under $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ for å sikre at cellenes integritet bevares, eller gå videre til trinn 3 hvis umiddelbar dyrking er nødvendig.
3. Ved umiddelbar dyrking tiner du hetteglasset raskt ved å senke det ned i et $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ varmt vannbad med rent vann og et antimikrobielt middel, og røre forsiktig i 40-60 sekunder til det blir en liten isklump igjen.
4. Utfør alle påfølgende trinn under sterile forhold i en strømningshette, og desinfiser kryoflasken med 70 % etanol før du åpner den.
5. Åpne det desinfiserte hetteglasset forsiktig, og overfør cellesuspensjonen til et 15 ml sentrifugerør som inneholder 8 ml romtemperert dyrkingsmedium, og bland forsiktig.
6. Sentrifuger blandingen ved $300 \times g$ i 3 minutter for å separere cellene, og kast supernatanten som inneholder rester av frysemedium, forsiktig.
7. Resuspender cellepelletten forsiktig i 10 ml nytt dyrkingsmedium. For adherente celler, del suspensjonen mellom to T25-kulturkolber; for suspensjonskulturer, overfør alt mediet til én T25-kolbe for å fremme effektiv celleinteraksjon og vekst.
8. Følg etablerte subkulturprotokoller for fortsatt vekst og vedlikehold av cellelinjen, noe som sikrer pålitelige eksperimentelle resultater.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5 % CO_2 , befuktet atmosfære.

Flask Coating

Ingen

Freezing Procedure

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca. $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

Shipping Conditions

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca. $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

Ku 80-/-celler | 305258

**Storage
Conditions**

For langtidsoppbevaring plasseres hetteglassene i flytende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Lagring ved -80 °C er kun akseptabelt som et kort mellomtrinn før overføring til flytende nitrogen.

Kvalitetskontroll / Genetisk profil / HLA

Sterility

Mykoplasma-kontaminering utelukkes ved hjelp av både PCR-baserte analyser og luminescensbaserte metoder for påvisning av mykoplasma.

For å sikre at det ikke finnes bakterie-, sopp- eller gjærkontaminering, blir cellekulturene inspisert visuelt hver dag.