

Celule Ku 80-/- | 305258

Informații generale

Description

Celulele Ku80-/- MEF (fibroblast embrionar de șoarece) sunt celule fibroblaste modificate genetic derivate din șoareci cărora le lipsește gena Ku80 (XRCC5). Proteina Ku80, împreună cu Ku70, formează heterodimerul Ku, care este esențial pentru calea NHEJ (non-homologous end joining) de reparare a ruperii ADN cu lanț dublu (DSB). Absența lui Ku80 în aceste celule le afectează capacitatea de a repara eficient DSB-urile, ceea ce le transformă într-un model valoros pentru studierea rolului căii NHEJ în stabilitatea genomică, mecanismele de reparare a ADN-ului și biologia cancerului.

Celulele Ku80-/- MEF prezintă o sensibilitate crescută la radiațiile ionizante și la alți agenți care dăunează ADN-ului din cauza capacității lor compromise de reparare a DSB. De asemenea, aceste celule tind să acumuleze aberații cromozomiale și să prezinte instabilitate genomică. Lipsa lui Ku80 afectează nu numai repararea ADN, ci și alte procese celulare, cum ar fi recombinarea V(D)J, care este esențială pentru dezvoltarea unui repertoriu divers de anticorpi și receptori ai celulelor T în sistemul imunitar.

Cercetările care utilizează celule MEF Ku80-/- au oferit informații semnificative privind mecanismele moleculare ale NHEJ și implicațiile mai largi ale reparării defectuoase a ADN-ului. Aceste studii sunt esențiale pentru înțelegerea dezvoltării cancerului și a altor boli asociate cu instabilitatea genomică. În plus, ele ajută la explorarea țintelor terapeutice potențiale pentru îmbunătățirea reparării ADN-ului în celulele canceroase, îmbunătățind astfel eficacitatea tratamentelor împotriva cancerului care se bazează pe inducerea de daune ADN-ului în celulele tumorale.

Organism

Șoarece

Tissue

Embrion

Disease

Fibroblaste embrionare normale de șoarece (cu gena Ku80/XRCC5 inactivată; imortalizate cu SV40; cu deficit de NHEJ)

Metastatic site

Nu se aplică (MEF imortalizate; nu este o probă tumorală clinică)

Applications

Cercetarea privind repararea ADN-ului prin NHEJ; funcția proteinelor Ku80/XRCC5; repararea rupturilor dublu-catenare ale ADN-ului (DSB); modelarea instabilității genomice; sensibilitatea la radiații; recombinarea V(D)J; biologia cancerului; testarea genotoxicității; răspunsul la deteriorarea ADN-ului

Synonyms

Ku80-/- MEF

Caracteristici

Age

12-13 zile fetale

Gender

Nespecificat

Ethnicity

Nu se aplică (linie celulară de șoarece)

Celule Ku 80-/- | 305258

Morphology Fibroblast-like**Cell type** Fibroblast**Growth properties** Aderent

Date de reglementare

Citation Ku 80-/- (număr de catalog Cytion 305258)**Biosafety level** 2**NCBI_TaxID** 10090**CellosaurusAccession** CVCL_UJ16**GMO Status** GMO-S1: Această linie MEF prezintă o mutație homozigotă de inactivare a genei Ku80 (XRCC5) și imortalizare prin antigenul T mare al virusului SV40. Transgenul SV40 este integrat în mod stabil. Această clasificare se aplică numai în Germania și poate diferi în alte țări.

Date biomoleculare

Viruses Transformant: virusul simian 40 (SV40)**Mutational profile** Mutație: Ku80-/-

Manipulare

Culture Medium DMEM, w: 4,5 g/L glucoză, w: 4 mM L-glutamină, w: 3,7 g/L NaHCO₃, w: 1,0 mM piruvat de sodiu (număr articol Cytion 820300a)**Supplements** Suplimentați mediul cu 10% FBS**Dissociation Reagent** Accutase

Celule Ku 80-/- | 305258

Subculturing

Îndepărtați mediul vechi de pe celulele aderente și spălați-le cu PBS care nu conține calciu și magneziu. Pentru flacoanele T25, se utilizează 3-5 ml de PBS, iar pentru flacoanele T75, 5-10 ml. Apoi, se acoperă celulele complet cu Accutase, folosind 1-2 ml pentru flacoanele T25 și 2,5 ml pentru flacoanele T75. Lăsați celulele la incubare la temperatura camerei timp de 8-10 minute pentru a le detașa. După incubare, amestecați ușor celulele cu 10 ml de mediu pentru a le resuspenda, apoi centrifugați la 300xg timp de 3 minute. Aruncați supernatantul, resuspendați celulele în mediu proaspăt și transferați-le în flacoane noi care conțin deja mediu proaspăt.

Freeze medium

Ca mediu de crioconservare, folosim mediu de creștere complet (inclusiv FBS) + 10% DMSO pentru o viabilitate adecvată după dezghețare sau CM-1 (număr de catalog Cytion 800100), care include osmoprotectanți optimizați și stabilizatori metabolici pentru a spori recuperarea și a reduce stresul indus de criogenie.

Thawing and Culturing Cells

1. Confirmați că flaconul rămâne profund înghețat la livrare, deoarece celulele sunt expediate pe gheață carbonică pentru a menține temperaturi optime în timpul transportului.
2. La primire, fie depozitați crioviola imediat la temperaturi sub -150 °C pentru a asigura păstrarea integrității celulare, fie treceți la etapa 3 dacă este necesară cultivarea imediată.
3. Pentru cultivarea imediată, dezghețați rapid flaconul prin scufundarea acestuia într-o baie de apă la 37 °C cu apă curată și un agent antimicrobian, agitându-l ușor timp de 40-60 de secunde până când rămâne o mică aglomerare de gheață.
4. Se efectuează toate etapele ulterioare în condiții sterile, într-o hotă cu flux, dezinfectând crioviola cu etanol 70% înainte de deschidere.
5. Se deschide cu grijă flaconul dezinfectat și se transferă suspensia celulară într-un tub de centrifugare de 15 ml care conține 8 ml de mediu de cultură la temperatura camerei, amestecând ușor.
6. Se centrifughează amestecul la 300 x g timp de 3 minute pentru a separa celulele și se aruncă cu grijă supernatantul care conține mediul de congelare rezidual.
7. Se resuspendă ușor peletul celular în 10 ml de mediu de cultură proaspăt. Pentru celulele aderente, împărțiți suspensia între două flacoane de cultură T25; pentru culturile în suspensie, transferați tot mediul într-un flacon T25 pentru a promova interacțiunea și creșterea celulară eficientă.
8. Respectați protocoalele de subcultură stabilite pentru creșterea și menținerea continuă a liniei celulare, asigurând rezultate experimentale fiabile.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO_2 , atmosferă umidificată.

Flask Coating

Niciuna

Celule Ku 80-/- | 305258

Freezing Procedure

Liniile celulare crioconservate sunt expediate pe gheață carbonică în ambalaje izolate, validate, cu suficient agent frigorific pentru a menține aproximativ -78 °C pe toată durata transportului. La primire, se inspectează imediat recipientul și se transferă fără întârziere fiolele în depozitul corespunzător.

Shipping Conditions

Liniile celulare crioconservate sunt expediate pe gheață carbonică în ambalaje izolate, validate, cu suficient agent frigorific pentru a menține aproximativ -78 °C pe toată durata transportului. La primire, se inspectează imediat recipientul și se transferă fără întârziere fiolele în depozitul corespunzător.

Storage Conditions

Pentru conservarea pe termen lung, flacoanele se plasează în azot lichid în fază de vapori la o temperatură cuprinsă între -150 și -196 °C. Păstrarea la -80 °C este acceptabilă doar ca o scurtă etapă intermediară înainte de transferul în azot lichid.

Controlul calității și analiza moleculară

Sterility

Contaminarea cu micoplasmă este exclusă utilizând atât teste bazate pe PCR, cât și metode de detectare a micoplasmei bazate pe luminescență.

Pentru a se asigura că nu există contaminare bacteriană, fungică sau de drojdie, culturile celulare sunt supuse unor inspecții vizuale zilnice.