

Ku80-/-celler | 305258

Allmän information

Description

Ku80-/- MEF-celler (Mouse Embryonic Fibroblast) är genetiskt modifierade fibroblastceller som härrör från möss som saknar Ku80-genen (XRCC5). Ku80-proteinet bildar tillsammans med Ku70 Ku-heterodimeren, som är nödvändig för den icke-homologa ändförbindelsen (NHEJ) vid reparation av dubbelsträngade DNA-brott (DSB). Avsaknaden av Ku80 i dessa celler försämrar deras förmåga att effektivt reparera DSB, vilket gör dem till en värdefull modell för att studera NHEJ-vägens roll i genomisk stabilitet, DNA-reparationsmekanismer och cancerbiologi.

Ku80-/- MEF-celler uppvisar ökad känslighet för joniserande strålning och andra DNA-skadliga ämnen på grund av deras försämrade förmåga att reparera DSB. Dessa celler tenderar också att ackumulera kromosomavvikelser och uppvisa genomisk instabilitet. Avsaknaden av Ku80 påverkar inte bara DNA-reparation utan även andra cellulära processer som V(D)J-rekombination, vilket är avgörande för utvecklingen av en mångsidig repertoar av antikroppar och T-cellsreceptorer i immunsystemet.

Forskning med Ku80-/- MEF-celler har gett betydande insikter i de molekylära mekanismerna för NHEJ och de bredare konsekvenserna av defekt DNA-reparation. Dessa studier är avgörande för att förstå utvecklingen av cancer och andra sjukdomar som är förknippade med genomisk instabilitet. Dessutom bidrar de till att utforska potentiella terapeutiska mål för att förbättra DNA-reparationen i cancerceller och därmed förbättra effekten av cancerbehandlingar som bygger på att inducera DNA-skador i tumörceller.

Organism

Mus

Tissue

Embryo

Disease

Normala embryonala fibroblaster från mus (Ku80/XRCC5-knockout; SV40-immortaliserade; NHEJ-defekta)

Metastatic site

Ej tillämpligt (odödliggjorda MEF-celler; inte ett kliniskt tumörprov)

Applications

Forskning om NHEJ-DNA-reparation; Ku80/XRCC5-funktionen; reparation av dubbelsträngsbrott (DSB) i DNA; modellering av genomisk instabilitet; strålningskänslighet; V(D)J-rekombination; cancerbiologi; genotoxicitetstestning; DNA-skadereaktion

Synonyms

Ku80-/- MEF

Egenskaper

Age

12-13 fosterdygn

Gender

Ospecificerad

Ethnicity

Ej tillämpligt (muscellinje)

Ku 80-/-celler | 305258

Morphology Fibroblastliknande**Cell type** Fibroblast**Growth properties** Följsam

Lagstadgade uppgifter

Citation Ku 80-/- (Cytion katalognummer 305258)**Biosafety level** 2**NCBI_TaxID** 10090**CellosaurusAccession** CVCL_UJ16**GMO Status** GMO-S1: Denna MEF-cellinje bär en homozygot Ku80 (XRCC5)-knockout och är immortaliserad med SV40:s stora T-antigen. SV40-transgenen är stabilt integrerad. Denna klassificering gäller endast inom Tyskland och kan skilja sig åt i andra länder.

Biomolekylära data

Viruses Transformant: Simian virus 40 (SV40)**Mutational profile** Mutation: Ku80-/-

Hantering

Culture Medium DMEM, w: 4,5 g/L glukos, w: 4 mM L-glutamin, w: 3,7 g/L NaHCO₃, w: 1,0 mM natriumpyruvat (Cytion artikelnummer 820300a)**Supplements** Komplettera mediet med 10% FBS**Dissociation Reagent** Accutase

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

Ta bort det gamla mediet från de adherenta cellerna och tvätta dem med PBS som saknar kalcium och magnesium. Använd 3-5 ml PBS för T25-kolvar och 5-10 ml för T75-kolvar. Täck sedan cellerna helt med Accutase, använd 1-2 ml för T25-kolvar och 2,5 ml för T75-kolvar. Låt cellerna inkubera i rumstemperatur i 8-10 minuter så att de lossnar. Efter inkubationen, blanda cellerna försiktigt med 10 ml medium för att resuspendera dem och centrifugera sedan vid 300xg i 3 minuter. Kassera supernatanten, resuspendera cellerna i färskt medium och överför dem till nya kolvar som redan innehåller färskt medium.

Freeze medium

Som kryokonservationsmedium använder vi komplett tillväxtmedium (inklusive FBS) + 10% DMSO för adekvat viabilitet efter upptining, eller CM-1 (Cytion katalognummer 800100), som innehåller optimerade osmoprotektanter och metaboliska stabilisatorer för att förbättra återhämtningen och minska kryoinducerad stress.

Thawing and Culturing Cells

1. Bekräfta att flaskan är djupfryst vid leverans, eftersom cellerna skickas på torris för att bibehålla optimala temperaturer under transporten.
2. Vid mottagandet ska du antingen förvara kryovialen omedelbart vid temperaturer under -150 °C för att säkerställa att cellernas integritet bevaras, eller gå vidare till steg 3 om omedelbar odling krävs.
3. Vid omedelbar odling ska injektionsflaskan snabbt tinas genom att den sänks ned i ett 37 °C vattenbad med rent vatten och ett antimikrobiellt medel och omrörs försiktigt i 40-60 sekunder tills en liten isklump återstår.
4. Utför alla efterföljande steg under sterila förhållanden i en flödeshuv och desinficera kryovialerna med 70 % etanol innan de öppnas.
5. Öppna försiktigt den desinficerade flaskan och överför cellsuspensionen till ett 15 ml centrifugrör som innehåller 8 ml rumstempererat odlingsmedium och blanda försiktigt.
6. Centrifugera blandningen vid 300 x g i 3 minuter för att separera cellerna och kassera försiktigt supernatanten som innehåller resterande frysmedium.
7. Resuspendera försiktigt cellpelleten i 10 ml färskt odlingsmedium. För adherenta celler, fördela suspensionen mellan två T25-kulturkanter; för suspensionskulturer, överför allt medium till en T25-kolv för att främja effektiv cellinteraktion och tillväxt.
8. Följ fastställda subkulturprotokoll för fortsatt tillväxt och underhåll av cellinjen, vilket säkerställer tillförlitliga experimentella resultat.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO_2 , befuktad atmosfär.

Flask Coating

Ingen

Ku 80-/--celler | 305258

Freezing Procedure

Kryopreserverade cellinjer skickas på torris i validerade, isolerade förpackningar med tillräckligt med kylmedel för att hålla cirka -78 °C under hela transporten. Vid mottagandet ska behållaren omedelbart inspekteras och flaskorna utan dröjsmål överförs till lämplig förvaring.

Shipping Conditions

Kryopreserverade cellinjer skickas på torris i validerade, isolerade förpackningar med tillräckligt med kylmedel för att hålla cirka -78 °C under hela transporten. Vid mottagandet ska behållaren omedelbart inspekteras och flaskorna utan dröjsmål överförs till lämplig förvaring.

Storage Conditions

För långtidsförvaring, placera flaskorna i flytande kväve i ångfas vid ca -150 till -196 °C. Förvaring vid -80 °C är acceptabelt endast som ett kort mellanliggande steg innan överföring till flytande kväve.

Kvalitetskontroll och molekyllär analys

Sterility

Mykoplasmakontaminering utesluts med hjälp av både PCR-baserade analyser och luminiscensbaserade metoder för mykoplasmadiagnostik.

För att säkerställa att det inte finns någon kontaminering av bakterier, svamp eller jäst utsätts cellkulturerna för dagliga visuella inspektioner.