

Cellules Ku 80-/- | 305258

Renseignements généraux

Description

Les cellules MEF (fibroblastes embryonnaires de souris) Ku80-/- sont des fibroblastes génétiquement modifiés dérivés de souris dépourvues du gène Ku80 (XRCC5). La protéine Ku80, en association avec la protéine Ku70, forme l'hétérodimère Ku, qui est essentiel à la voie de jonction des extrémités non homologues (NHEJ) impliquée dans la réparation des cassures double brin (DSB) de l'ADN. L'absence de Ku80 dans ces cellules altère leur capacité à réparer efficacement les DSB, ce qui en fait un modèle précieux pour l'étude du rôle de la voie NHEJ dans la stabilité génomique, les mécanismes de réparation de l'ADN et la biologie du cancer.

Les cellules MEF Ku80-/- présentent une sensibilité accrue aux rayonnements ionisants et à d'autres agents endommageant l'ADN en raison de leur capacité de réparation des DSB compromise. Ces cellules ont également tendance à accumuler des aberrations chromosomiques et à présenter une instabilité génomique. L'absence de Ku80 affecte non seulement la réparation de l'ADN, mais aussi d'autres processus cellulaires tels que la recombinaison V(D)J, qui est cruciale pour le développement d'un répertoire diversifié d'anticorps et de récepteurs des cellules T au sein du système immunitaire.

Les recherches menées à l'aide de cellules MEF Ku80-/- ont apporté des éclairages importants sur les mécanismes moléculaires de la NHEJ et sur les implications plus larges d'une réparation défectueuse de l'ADN. Ces études sont essentielles pour comprendre le développement du cancer et d'autres maladies associées à l'instabilité génomique. De plus, elles contribuent à l'exploration de cibles thérapeutiques potentielles visant à renforcer la réparation de l'ADN dans les cellules cancéreuses, améliorant ainsi l'efficacité des traitements anticancéreux qui reposent sur l'induction de dommages à l'ADN dans les cellules tumorales.

Organism

Souris

Tissue

Embryon

Disease

Fibroblastes embryonnaires de souris normaux (knock-out Ku80/XRCC5; immortalisés par le SV40; déficients en NHEJ)

Metastatic site

Sans objet (cellules MEF immortalisées; il ne s'agit pas d'un échantillon tumoral clinique)

Applications

Recherche sur la réparation de l'ADN par la voie NHEJ; fonction de Ku80/XRCC5; réparation des cassures double brin (DSB) de l'ADN; modélisation de l'instabilité génomique; sensibilité aux rayonnements; recombinaison V(D)J; biologie du cancer; essais de génotoxicité; réponse aux dommages à l'ADN

Synonyms

MEF Ku80-/-

Caractéristiques

Age

12e et 13e jours fœtaux

Gender

Non précisé

Cellules Ku 80-/- | 305258

Ethnicity Sans objet (lignée cellulaire de souris)

Morphology De type fibroblaste

Cell type Fibroblaste

Growth properties Adepte

Données réglementaires

Citation Ku 80-/- (numéro de catalogue Cytion 305258)

Biosafety level 2

NCBI_TaxID 10090

CellosaurusAccession CVCL_UJ16

GMO Status GMO-S1 : Cette lignée MEF présente une inactivation homozygote du gène Ku80 (XRCC5) et une immortalisation par l'antigène T de grande taille du SV40. Le transgène SV40 est intégré de manière stable. Cette classification ne s'applique qu'en Allemagne et peut varier ailleurs.

Données biomoléculaires

Viruses Transformant : virus simien 40 (SV40)

Mutational profile Mutation : Ku80-/-

Manipulation

Culture Medium DMEM, p/v : 4,5 g/L de glucose, p/v : 4 mM de L-glutamine, p/v : 3,7 g/L de NaHCO₃, p/v : 1,0 mM de pyruvate de sodium (référence Cytion 820300a)

Supplements Ajouter 10 % de FBS au milieu de culture

Dissociation Reagent Accutase

Cellules Ku 80-/- | 305258

Subculturing

Retirez l'ancien milieu des cellules adhérentes et lavez-les avec du PBS sans calcium ni magnésium. Pour les flacons T25, utilisez 3 à 5 ml de PBS, et pour les flacons T75, utilisez 5 à 10 ml. Ensuite, recouvrez complètement les cellules d'Accutase, en utilisant 1 à 2 ml pour les flacons T25 et 2,5 ml pour les flacons T75. Laissez les cellules incuber à température ambiante pendant 8 à 10 minutes afin de les détacher. Après l'incubation, mélangez délicatement les cellules avec 10 ml de milieu pour les remettre en suspension, puis centrifugez à 300 x g pendant 3 minutes. Éliminez le surnageant, remettez les cellules en suspension dans du milieu frais, puis transférez-les dans de nouveaux flacons contenant déjà du milieu frais.

Freeze medium

Comme milieu de cryoconservation, nous utilisons un milieu de croissance complet (contenant du sérum foetal bovin) + 10 % de DMSO pour assurer une viabilité adéquate après décongélation, ou du CM-1 (référence Cytion 800100), qui contient des osmoprotecteurs et des stabilisateurs métaboliques optimisés pour améliorer la récupération et réduire le stress induit par la cryoconservation.

Thawing and Culturing Cells

1. Assurez-vous que le flacon reste bien congelé à la livraison, car les cellules sont expédiées sur de la glace sèche afin de maintenir des températures optimales pendant le transport.
2. À la réception, conservez immédiatement le cryofiole à une température inférieure à -150 °C pour garantir la préservation de l'intégrité cellulaire, ou passez à l'étape 3 si une culture immédiate est nécessaire.
3. Pour une culture immédiate, décongelez rapidement le flacon en l'immergeant dans un bain-marie à 37 °C contenant de l'eau propre et un agent antimicrobien, en agitant doucement pendant 40 à 60 secondes jusqu'à ce qu'il ne reste qu'un petit morceau de glace.
4. Effectuez toutes les étapes suivantes dans des conditions stériles sous une hotte à flux laminaire, en désinfectant le cryotube avec de l'éthanol à 70 % avant de l'ouvrir.
5. Ouvrez avec précaution le flacon désinfecté et transférez la suspension cellulaire dans un tube à centrifuger de 15 ml contenant 8 ml de milieu de culture à température ambiante, en mélangeant délicatement.
6. Centrifuger le mélange à 300 x g pendant 3 minutes pour séparer les cellules, puis jeter avec précaution le surnageant contenant le milieu de congélation résiduel.
7. Remettre délicatement le culot cellulaire en suspension dans 10 ml de milieu de culture frais. Pour les cellules adhérentes, répartir la suspension dans deux flacons de culture T25; pour les cultures en suspension, transférer la totalité du milieu dans un seul flacon T25 afin de favoriser une interaction et une croissance cellulaires efficaces.
8. Respectez les protocoles de sous-culture établis pour assurer la croissance continue et le maintien de la lignée cellulaire, garantissant ainsi des résultats expérimentaux fiables.

Cellules Ku 80-/- | 305258

Incubation Atmosphere

37 °C, 5 % de CO₂, atmosphère humidifiée.

Shipping Conditions

Les lignées cellulaires cryoconservées sont expédiées dans de la glace sèche, dans un emballage isotherme validé contenant suffisamment de réfrigérant pour maintenir une température d'environ -78 °C pendant tout le transport. À la réception, inspectez immédiatement le conteneur et transférez sans délai les flacons dans un lieu de stockage approprié.

Storage Conditions

Pour une conservation à long terme, placez les flacons dans de l'azote liquide en phase vapeur à une température comprise entre environ -150 et -196 °C. L'entreposage à -80 °C n'est acceptable qu'à titre d'étape intermédiaire de courte durée avant le transfert dans l'azote liquide.

Contrôle de la qualité et analyse moléculaire

Sterility

La contamination par les mycoplasmes est exclue à l'aide de tests basés sur la PCR et de méthodes de détection des mycoplasmes par luminescence.

Afin de s'assurer qu'il n'y a aucune contamination bactérienne, fongique ou par des levures, les cultures cellulaires font l'objet d'inspections visuelles quotidiennes.