

Células Ku 80-/- | 305258**Informações gerais****Description**

As células Ku80-/- MEF (fibroblastos embrionários de camundongo) são células de fibroblastos geneticamente modificadas, derivadas de camundongos que não possuem o gene Ku80 (XRCC5). A proteína Ku80, em conjunto com a Ku70, forma o heterodímero Ku, essencial para a via de junção de extremidades não homólogas (NHEJ) no reparo de quebras de fita dupla (DSB) do DNA. A ausência de Ku80 nessas células prejudica sua capacidade de reparar DSBs de forma eficaz, tornando-as um modelo valioso para o estudo do papel da via NHEJ na estabilidade genômica, nos mecanismos de reparo do DNA e na biologia do câncer.

As células MEF Ku80-/- apresentam maior sensibilidade à radiação ionizante e a outros agentes que causam danos ao DNA devido à sua capacidade comprometida de reparo de DSBs. Essas células também tendem a acumular aberrações cromossômicas e apresentam instabilidade genômica. A ausência de Ku80 afeta não apenas o reparo do DNA, mas também outros processos celulares, como a recombinação V(D)J, que é crucial para o desenvolvimento de um repertório diversificado de anticorpos e receptores de células T no sistema imunológico.

Pesquisas utilizando células MEF Ku80-/- proporcionaram insights significativos sobre os mecanismos moleculares da NHEJ e as implicações mais amplas do reparo defeituoso do DNA. Esses estudos são cruciais para a compreensão do desenvolvimento do câncer e de outras doenças associadas à instabilidade genômica. Além disso, eles ajudam na exploração de possíveis alvos terapêuticos para potencializar o reparo do DNA em células cancerosas, melhorando assim a eficácia dos tratamentos contra o câncer que dependem da indução de danos no DNA das células tumorais.

Organism

Mouse

Tissue

Embrião

Disease

Fibroblastos embrionários normais de camundongo (knockout para Ku80/XRCC5; imortalizados por SV40; com deficiência de NHEJ)

Metastatic site

Não aplicável (MEF imortalizadas; não se trata de uma amostra tumoral clínica)

Applications

Pesquisa sobre reparo do DNA por NHEJ; função de Ku80/XRCC5; reparo de quebras de fita dupla (DSB) no DNA; modelagem da instabilidade genômica; sensibilidade à radiação; recombinação V(D)J; biologia do câncer; testes de genotoxicidade; resposta a danos no DNA

Synonyms

Ku80-/- MEF

Características**Age**

12 a 13 dias fetais

Gender

Não especificado

Células Ku 80-/- | 305258**Ethnicity** Não aplicável (linha celular de camundongo)**Morphology** Semelhante a fibroblastos**Cell type** Fibroblasto**Growth properties** Aderente**Dados regulatórios****Citation** Ku 80-/- (número de catálogo da Cytion 305258)**Biosafety level** 2**NCBI_TaxID** 10090**CellosaurusAccession** CVCL_UJ16**GMO Status** GMO-S1: Esta linhagem de MEF apresenta a deleção homozigótica do gene Ku80 (XRCC5) e imortalização pelo antígeno T grande do SV40. O transgene do SV40 está integrado de forma estável. Essa classificação se aplica apenas na Alemanha e pode diferir em outros países.**Dados biomoleculares****Viruses** Transformante: Vírus simiano 40 (SV40)**Mutational profile** Mutação: Ku80-/-**Manuseio****Culture Medium** DMEM, p/v: 4,5 g/L de glicose, p/v: 4 mM de L-glutamina, p/v: 3,7 g/L de NaHCO₃, p/v: 1,0 mM de piruvato de sódio (número de artigo da Cytion 820300a)**Supplements** Adicione 10% de FBS ao meio**Dissociation Reagent** Accutase

Células Ku 80-/- | 305258

Subculturing Remova o meio antigo das células aderentes e lave-as com PBS sem cálcio nem magnésio. Para frascos T25, use 3 a 5 ml de PBS; para frascos T75, use 5 a 10 ml. Em seguida, cubra as células completamente com Accutase, utilizando 1 a 2 ml para frascos T25 e 2,5 ml para frascos T75. Deixe as células incubarem à temperatura ambiente por 8 a 10 minutos para que se desprendam. Após a incubação, misture delicadamente as células com 10 ml de meio para ressuspender, depois centrifugue a 300xg por 3 minutos. Descarte o sobrenadante, ressuspenda as células em meio fresco e transfira-as para novos frascos que já contenham meio fresco.

Freeze medium Como meio de criopreservação, utilizamos meio de crescimento completo (incluindo FBS) + 10% de DMSO para garantir viabilidade adequada após o descongelamento, ou CM-1 (número de catálogo da Cytion 800100), que inclui osmoprotetores e estabilizadores metabólicos otimizados para melhorar a recuperação e reduzir o estresse induzido pela criopreservação.

Thawing and Culturing Cells

1. Verifique se o frasco permanece profundamente congelado no momento da entrega, pois as células são enviadas em gelo seco para manter as temperaturas ideais durante o transporte.
2. Após o recebimento, armazene o criovial imediatamente a temperaturas abaixo de -150 °C para garantir a preservação da integridade celular ou prossiga para a etapa 3, caso seja necessária a cultura imediata.
3. Para cultura imediata, descongele rapidamente o frasco imergindo-o em um banho-maria a 37 °C com água limpa e um agente antimicrobiano, agitando suavemente por 40 a 60 segundos até que reste apenas um pequeno pedaço de gelo.
4. Realize todas as etapas subsequentes em condições estéreis em uma cabine de fluxo, desinfetando o criovial com etanol a 70% antes de abri-lo.
5. Abra cuidadosamente o frasco desinfetado e transfira a suspensão celular para um tubo de centrifuga de 15 ml contendo 8 ml de meio de cultura à temperatura ambiente, misturando delicadamente.
6. Centrifugue a mistura a 300 x g por 3 minutos para separar as células e descarte cuidadosamente o sobrenadante contendo o meio de congelamento residual.
7. Ressuspender suavemente o sedimento celular em 10 ml de meio de cultura fresco. Para células aderentes, dividir a suspensão entre dois frascos de cultura T25; para culturas em suspensão, transferir todo o meio para um frasco T25 a fim de promover a interação e o crescimento celular eficazes.
8. Siga os protocolos de subcultura estabelecidos para o crescimento contínuo e a manutenção da linhagem celular, garantindo resultados experimentais confiáveis.

Incubation Atmosphere 37 °C, 5% de CO₂, atmosfera umidificada.

Células Ku 80-/- | 305258

Shipping Conditions

As linhagens celulares criopreservadas são enviadas em gelo seco, em embalagens isoladas e validadas, com refrigerante suficiente para manter a temperatura em aproximadamente $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ durante todo o transporte. Ao receber a remessa, inspecione o recipiente imediatamente e transfira os frascos sem demora para o local de armazenamento adequado.

Storage Conditions

Para preservação a longo prazo, coloque os frascos em nitrogênio líquido em fase de vapor a uma temperatura entre aproximadamente -150 e $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$. O armazenamento a $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ é aceitável apenas como uma etapa intermediária de curta duração antes da transferência para o nitrogênio líquido.

Controle de Qualidade e Análise Molecular

Sterility

A contaminação por micoplasma é descartada por meio de ensaios baseados em PCR e de métodos de detecção de micoplasma baseados em luminescência.

Para garantir que não haja contaminação por bactérias, fungos ou leveduras, as culturas celulares são submetidas a inspeções visuais diárias.