

Клетки FS-C3H | 400418

Обща информация

Description

Клетъчната линия FS-C3H, получена от мишия щам C3H/HeJ, играе ключова роля в изучаването на реакциите на гостоприемника към ендотоксини, особено в контекста на изследванията на рака. Този щам се отличава със своята устойчивост към ендотоксин, дължаща се на специфична нечувствителност към липополизахарид (LPS), основен компонент на бактериалния ендотоксин. Тази характеристика превръща FS-C3H в безценен модел за изследване на биохимичните и генетичните пътища, свързани с регулирането на имунния отговор. Изследователите са използвали широко тази клетъчна линия, за да проучат динамиката на В лимфоцитите и макрофагите, като са се фокусирали върху тяхната уникална нереактивност към LPS, която контрастира с типичните реакции на имунните клетки към такива стимули.

Нереактивността на FS-C3H клетките към LPS се дължи на липсата или промяната на ключов рецептор, отговорен за трансдукцията на LPS сигнала. Проучванията показват, че въпреки липсата на реактивност към LPS тези клетки могат да бъдат активирани по алтернативни пътища, като например протеин киназа C (PKC) и тирозин киназни сигнални механизми, подобни на тези, които се активират в реагиращите на LPS клетки. Взаимодействието и регулаторните роли на тези кинази в сигналните пътища подчертават сложни вътреклетъчни механизми, което предполага, че PKC и тирозин киназните пътища могат да компенсират дефектната LPS сигнализация. Това наблюдение открива пътища за изследване на начина, по който модулираното от тирозин кинази фосфорилиране влияе върху цялостния клетъчен отговор при тези мишки.

Продължаването на изследванията върху клетките FS-C3H е от решаващо значение за разбирането на молекулярната основа на тяхната хипореактивност към LPS, потенциално свързана с генетичен дефект в гена *Lpsn*. Като вникват в профилите на фосфорилиране на тези клетки в сравнение с клетките, реагиращи на LPS, учените се стремят да разкрият специфичните молекулярни дефекти, които водят до променени реакции на генна активация и пролиферация. Изолирането и охарактеризирането на генния продукт, отговорен за взаимодействието с LPS, може да осигури по-задълбочен поглед върху дисфункциите на имунната система и да проправи пътя за нови терапевтични подходи при лечението на свързаните с тях имунни и възпалителни нарушения.

Organism	Мишка
Tissue	Кожа
Disease	Фибросарком

Характеристики

Breed/Subspecies	C3H
-------------------------	-----

Growth properties	Придържащи се
--------------------------	---------------

Регулаторни данни

Клетки FS-C3H | 400418

Citation	FS-C3H (каталожен номер на Cytion 400418)
-----------------	---

Biosafety level	1
------------------------	---

NCBI_TaxID	10090
-------------------	-------

CellosaurusAccession	CVCL_5755
-----------------------------	-----------

Биомолекулярни данни

Работа с

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/L глюкоза, w: 4 mM L-глутамин, w: 3,7 g/L NaHCO ₃ , w: 1,0 mM натриев пируват (номер на изделието на Cytion 820300a)
-----------------------	--

Supplements	Допълнете средата с 10% FBS
--------------------	-----------------------------

Dissociation Reagent	Accutase
-----------------------------	----------

Subculturing	Отстранете старата среда от адхезивните клетки и ги промийте с PBS, която не съдържа калций и магнезий. За колби T25 използвайте 3-5 ml PBS, а за колби T75 - 5-10 ml. След това покрийте клетките изцяло с Accutase, като използвате 1-2 ml за колби T25 и 2,5 ml за колби T75. Оставете клетките да се инкубират на стайна температура за 8-10 минути, за да се отделят. След инкубацията внимателно разбъркайте клетките с 10 ml среда, за да ги ресуспендирате, след което центрофугирайте при 300xg за 3 минути. Изхвърлете супернатантата, ресуспендирайте клетките в прясна среда и ги прехвърлете в нови колби, които вече съдържат прясна среда.
---------------------	---

Seeding density	2×10^4 клетки/cm ²
------------------------	--

Fluid renewal	2 до 3 пъти седмично
----------------------	----------------------

Freeze medium	Като среда за криоконсервация използваме пълна среда за растеж (включително FBS) + 10% DMSO за адекватна жизнеспособност след размразяване или CM-1 (каталожен номер 800100 на Cytion), която включва оптимизирани осмопротектори и метаболитни стабилизатори за подобряване на възстановяването и намаляване на криоиндуцирания стрес.
----------------------	---

Клетки FS-C3H | 400418

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Уверете се, че флаконът остава дълбоко замразен при доставката, тъй като клетките се транспортират със сух лед, за да се поддържат оптимални температури по време на транспортирането.
2. При получаване или съхранявайте незабавно криовиолата при температури под $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, за да осигурите запазване на клетъчната цялост, или преминете към стъпка 3, ако е необходимо незабавно култивиране.
3. За незабавно култивиране бързо размразете флакона, като го потопите във водна баня с чиста вода и антимикуробен агент с температура $37\text{ }^{\circ}\text{C}$, като разбърквате внимателно в продължение на 40-60 секунди, докато остане малка ледена бучка.
4. Извършвайте всички следващи стъпки при стерилни условия в аспиратор, като преди отваряне дезинфекцирате криовиолата със 70% етанол.
5. Внимателно отворете дезинфекцирания флакон и прехвърлете клетъчната суспензия в 15 ml центрофужна епруветка, съдържаща 8 ml хранителна среда със стайна температура, като разбърквате внимателно.
6. Центрофугирайте сместа при 300 x g в продължение на 3 минути, за да отделите клетките, и внимателно изхвърлете супернатантата, съдържаща остатъчна замразяваща среда.
7. Внимателно ресуспендирайте клетъчната пелета в 10 ml прясна хранителна среда. За адхезивни клетки разделете суспензията между две колби T25; за суспензионни култури прехвърлете цялата среда в една колба T25, за да стимулирате ефективното взаимодействие и растеж на клетките.
8. Придържайте се към установените протоколи за субкултивиране за непрекъснат растеж и поддържане на клетъчната линия, като гарантирате надеждни експериментални резултати.

**Incubation
Atmosphere**

37°C , 5% CO_2 , овлажнена атмосфера.

Flask Coating

За оптимално прикрепване и жизнеспособност след размразяване препоръчваме да се използват **колби или плаки с колагеново покритие**.

**Freezing
Procedure**

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

Клетки FS-C3H | 400418

Shipping Conditions

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

Storage Conditions

За дълготрайно съхранение поставете флаконите в течен азот в парна фаза при температура около -150 до $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$. Съхранението при $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ е приемливо само като кратък междинен етап преди прехвърлянето в течен азот.

Контрол на качеството / Генетичен профил / HLA

Sterility

Замърсяването с микоплазма се изключва както чрез PCR-базирани анализи, така и чрез луминесцентни методи за откриване на микоплазма.

За да се гарантира, че няма бактериално, гъбично или дрождево замърсяване, клетъчните култури се подлагат на ежедневни визуални проверки.