

## Buňky FS-C3H | 400418

## Obecné informace

## Description

Buněčná linie FS-C3H, odvozená z myšního kmene C3H/HeJ, hraje klíčovou roli při studiu reakcí hostitele na endotoxiny, zejména v kontextu výzkumu rakoviny. Tento kmen se vyznačuje odolností vůči endotoxinu díky specifické necitlivosti na lipopolysacharid (LPS), hlavní složku bakteriálního endotoxinu. Díky této vlastnosti se FS-C3H stal neocenitelným modelem pro zkoumání biochemických a genetických drah zapojených do regulace imunitní odpovědi. Výzkumníci tuto buněčnou linii hojně využívali ke zkoumání dynamiky B lymfocytů a makrofágů se zaměřením na jejich jedinečnou nereaktivitu na LPS, která kontrastuje s typickými reakcemi imunitních buněk na takové podněty.

Nereaktivita buněk FS-C3H na LPS se přisuzuje absenci nebo změně klíčového receptoru zodpovědného za přenos signálu LPS. Studie ukázaly, že navzdory nereaktivitě na LPS mohou být tyto buňky aktivovány alternativními cestami, jako jsou proteinkináza C (PKC) a tyrozinkinázové signální mechanismy, podobné těm, které se aktivují u buněk reagujících na LPS. Interakce a regulační role těchto kináz v signálních drahách poukazují na komplexní vnitrobuněčné mechanismy, což naznačuje, že dráhy PKC a tyrozinkinázy by mohly kompenzovat defektní signalizaci LPS. Toto pozorování otevírá možnosti pro zkoumání toho, jak fosforylace modulovaná tyrozinkinázami ovlivňuje celkové buněčné odpovědi u těchto myší.

Pokračování výzkumu buněk FS-C3H je zásadní pro pochopení molekulárního základu jejich hyporesponzivity na LPS, která potenciálně souvisí s genetickým defektem v genu *Lpsn*. Prozkoumáním fosforylačních profilů těchto buněk ve srovnání s buňkami, které reagují na LPS, chtějí vědci odhalit specifické molekulární defekty, které vedou ke změněné aktivaci genů a proliferační odpovědi. Izolace a charakterizace genového produktu zodpovědného za interakci s LPS by mohla poskytnout hlubší vhled do dysfunkcí imunitního systému a připravit půdu pro nové terapeutické přístupy v léčbě souvisejících imunitních a zánětlivých poruch.

**Organism** Myš

**Tissue** Kůže

**Disease** Fibrosarkom

## Charakteristika

**Breed/Subspecies** C3H

**Growth properties** Adherentní

## Regulační údaje

**Citation** FS-C3H (katalogové číslo Cytion 400418)

**Biosafety level** 1

**Buňky FS-C3H | 400418****NCBI\_TaxID** 10090**CellosaurusAccession** CVCL\_5755**Biomolekulární data****Zpracování****Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/l glukózy, w: 4 mM L-glutaminu, w: 3,7 g/l NaHCO<sub>3</sub>, w: 1,0 mM pyruvátu sodného (číslo výrobku Cytion 820300a)**Supplements** Doplněte médium o 10% FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Odstraňte staré médium z adherovaných buněk a promyjte je PBS bez vápníku a hořčíku. Pro baňky T25 použijte 3-5 ml PBS a pro baňky T75 5-10 ml. Poté buňky zcela zakryjte přípravkem Accutase, přičemž použijte 1-2 ml pro baňky T25 a 2,5 ml pro baňky T75. Nechte buňky inkubovat při pokojové teplotě po dobu 8-10 minut, aby se oddělily. Po inkubaci jemně promíchejte buňky s 10 ml média, aby byly znovu suspendovány, a poté je odstředte při 300xg po dobu 3 minut. Supernatant vyhodte, buňky znovu rozpustěte v čerstvém médiu a přeneste je do nových baněk, které již obsahují čerstvé médium.**Split ratio** Doporučuje se poměr 1:5 až 1:20**Seeding density**  $2 \times 10^4$  buněk/cm<sup>2</sup>**Fluid renewal** 2 až 3krát týdně**Freeze medium** Jako kryokonzervační médium používáme kompletní růstové médium (včetně FBS) + 10 % DMSO pro zajištění dostatečné životaschopnosti po rozmrazení nebo CM-1 (katalogové číslo 800100 společnosti Cytion), které obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory pro zlepšení regenerace a snížení stresu způsobeného kryem.

## Buňky FS-C3H | 400418

### Thawing and Culturing Cells

1. Ověřte si, že lahvička zůstane při dodání hluboce zmrazená, protože buňky se přepravují na suchém ledu, aby se během přepravy udržely optimální teploty.
2. Po obdržení kryovialku buď okamžitě uložte při teplotě nižší než  $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ , abyste zajistili zachování buněčné integrity, nebo přejděte ke kroku 3, pokud je nutná okamžitá kultivace.
3. Pro okamžitou kultivaci rychle rozmrazte lahvičku ponořením do vodní lázně o teplotě  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$  s čistou vodou a antimikrobiálním prostředkem a jemně ji míchejte po dobu 40-60 sekund, dokud nezůstane malý ledový chuchvalec.
4. Všechny další kroky provádějte za sterilních podmínek v průtokové digestoři a před otevřením kryovialku dezinfikujte 70% ethanolem.
5. Opatrně otevřete dezinfikovanou lahvičku a přeneste buněčnou suspenzi do 15 ml centrifugační zkumavky obsahující 8 ml kultivačního média o pokojové teplotě a jemně promíchejte.
6. Směs odstředujte při  $300 \times g$  po dobu 3 minut, aby se buňky oddělily, a supernatant obsahující zbytky mrazicího média opatrně zlikvidujte.
7. Pelety buněk jemně resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačního média. U adherentních buněk rozdělte suspenzi mezi dvě kultivační baňky T25; u suspenzních kultur přeneste veškeré médium do jedné baňky T25, abyste podpořili účinnou interakci a růst buněk.
8. Dodržujte zavedené subkultivační protokoly pro kontinuální růst a udržování buněčné linie, čímž zajistíte spolehlivé výsledky experimentů.

### Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$ , 5 %  $\text{CO}_2$ , zvlhčená atmosféra.

### Flask Coating

Pro optimální uchycení a životaschopnost po rozmrazení doporučujeme používat **baňky nebo destičky potažené kolagenem**.

### Freezing Procedure

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

## Buňky FS-C3H | 400418

### Shipping Conditions

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

### Storage Conditions

Pro dlouhodobé uchování umístěte lahvičky do kapalného dusíku v plynné fázi při teplotě přibližně -150 až -196 °C. Skladování při -80 °C je přijatelné pouze jako krátký přechodný krok před přemístěním do kapalného dusíku.

## Kontrola kvality / Genetický profil / HLA

### Sterility

Kontaminace mykoplazmaty je vyloučena jak pomocí testů založených na PCR, tak pomocí luminiscenčních metod detekce mykoplazmy.

Aby se zajistilo, že nedojde ke kontaminaci bakteriemi, plísněmi nebo kvasinkami, jsou buněčné kultury denně podrobovány vizuálním kontrolám.