

## Κύτταρα FS-C3H | 400418

## Γενικές πληροφορίες

## Description

Η κυτταρική σειρά FS-C3H, που προέρχεται από το στέλεχος ποντικών C3H/HeJ, διαδραματίζει καθοριστικό ρόλο στη μελέτη των αποκρίσεων του ξενιστή στις ενδοτοξίνες, ιδίως στο πλαίσιο της έρευνας για τον καρκίνο. Το στέλεχος αυτό είναι αξιολογούμενο για την αντοχή του στην ενδοτοξίνη λόγω ειδικής αναισθησίας στον λιποπολυσακχαρίτη (LPS), κύριο συστατικό της βακτηριακής ενδοτοξίνης. Αυτό το χαρακτηριστικό έχει καταστήσει το FS-C3H ένα ανεκτίμητο μοντέλο για την ανάλυση των βιοχημικών και γενετικών μονοπατιών που εμπλέκονται στη ρύθμιση της ανοσολογικής απόκρισης. Οι ερευνητές έχουν χρησιμοποιήσει εκτενώς αυτή την κυτταρική σειρά για να εξετάσουν τη δυναμική των Β λεμφοκυττάρων και των μακροφάγων, εστιάζοντας στη μοναδική μη-ανταπόκρισή τους στον LPS, η οποία έρχεται σε αντίθεση με τις τυπικές αντιδράσεις των κυττάρων του ανοσοποιητικού συστήματος σε τέτοια ερεθίσματα.

Η μη ανταπόκριση των κυττάρων FS-C3H στον LPS αποδίδεται στην απουσία ή στην αλλοίωση ενός κρίσιμου υποδοχέα που είναι υπεύθυνος για τη μεταγωγή σήματος του LPS. Μελέτες έχουν δείξει ότι, παρά τη μη αντίδραση στον LPS, τα κύτταρα αυτά μπορούν να ενεργοποιηθούν μέσω εναλλακτικών οδών, όπως οι μηχανισμοί σηματοδότησης της πρωτεϊνικής κινάσης C (PKC) και της κινάσης τυροσίνης, παρόμοιοι με εκείνους που ενεργοποιούνται στα κύτταρα που ανταποκρίνονται στον LPS. Η αλληλεπίδραση και οι ρυθμιστικοί ρόλοι αυτών των κινασών στα μονοπάτια σηματοδότησης αναδεικνύουν πολύπλοκους ενδοκυτταρικούς μηχανισμούς, γεγονός που υποδηλώνει ότι τα μονοπάτια της PKC και της κινάσης τυροσίνης θα μπορούσαν να αντισταθμίσουν την ελαττωματική σηματοδότηση του LPS. Η παρατήρηση αυτή ανοίγει δρόμους για τη διερεύνηση του τρόπου με τον οποίο η φωσφορυλίωση που ρυθμίζεται από κινάσες τυροσίνης επηρεάζει τις συνολικές κυτταρικές αποκρίσεις σε αυτά τα ποντίκια.

Η συνέχιση της έρευνας στα κύτταρα FS-C3H είναι ζωτικής σημασίας για την κατανόηση της μοριακής βάσης της υποανταπόκρισής τους στον LPS, που ενδεχομένως συνδέεται με γενετικό ελάττωμα στο γονίδιο *Lpsn*. Εμβαθύνοντας στα προφίλ φωσφορυλίωσης αυτών των κυττάρων σε σύγκριση με τα κύτταρα που ανταποκρίνονται στο LPS, οι επιστήμονες στοχεύουν να διαλευκάνουν τις συγκεκριμένες μοριακές ατέλειες που οδηγούν σε τροποποιημένες αποκρίσεις γονιδιακής ενεργοποίησης και πολλαπλασιασμού. Η απομόνωση και ο χαρακτηρισμός του γονιδιακού προϊόντος που είναι υπεύθυνο για την αλληλεπίδραση με το LPS θα μπορούσε να προσφέρει βαθύτερη γνώση των δυσλειτουργιών του ανοσοποιητικού συστήματος και να ανοίξει το δρόμο για νέες θεραπευτικές προσεγγίσεις στη θεραπεία σχετικών ανοσολογικών και φλεγμονωδών διαταραχών.

**Organism** Ποντίκι

**Tissue** Δέρμα

**Disease** Ινοσάρκωμα

## Χαρακτηριστικά

**Breed/Subspecies** C3H

**Growth properties** Προσκολλημένο

## Κύτταρα FS-C3H | 400418

## Ρυθμιστικά δεδομένα

<b>Citation</b>	FS-C3H (αριθμός καταλόγου Cytion 400418)
<b>Biosafety level</b>	1
<b>NCBI_TaxID</b>	10090
<b>CellosaurusAccession</b>	CVCL_5755

## Βιομοριακά δεδομένα

## Χειρισμός

<b>Culture Medium</b>	DMEM, w: 4,5 g/L γλυκόζη, w: 4 mM L-γλουταμίνη, w: 3,7 g/L NaHCO <sub>3</sub> , w: 1,0 mM πυρουβικό νάτριο (αριθμός άρθρου Cytion 820300a)
<b>Supplements</b>	Συμπληρώστε το μέσο με 10% FBS
<b>Dissociation Reagent</b>	Accutase
<b>Subculturing</b>	Αφαιρέστε το παλιό μέσο από τα προσκολλημένα κύτταρα και πλύντε τα με PBS που δεν περιέχει ασβέστιο και μαγνήσιο. Για φιάλες T25, χρησιμοποιήστε 3-5 ml PBS και για φιάλες T75, χρησιμοποιήστε 5-10 ml. Στη συνέχεια, καλύψτε πλήρως τα κύτταρα με Accutase, χρησιμοποιώντας 1-2 ml για φιάλες T25 και 2,5 ml για φιάλες T75. Αφήστε τα κύτταρα να επωαστούν σε θερμοκρασία δωματίου για 8-10 λεπτά για να αποκολληθούν. Μετά την επώαση, αναμείξτε απαλά τα κύτταρα με 10 ml μέσου για να ανασυσταθούν και, στη συνέχεια, φυγοκεντρίστε στα 300xg για 3 λεπτά. Απορρίψτε το υπερκείμενο υγρό, ανασυστάστε τα κύτταρα σε φρέσκο μέσο και μεταφέρετέ τα σε νέες φιάλες που περιέχουν ήδη φρέσκο μέσο.
<b>Seeding density</b>	$2 \times 10^4$ κύτταρα/cm <sup>2</sup>
<b>Fluid renewal</b>	2 έως 3 φορές την εβδομάδα
<b>Freeze medium</b>	Ως μέσο κρυοσυντήρησης, χρησιμοποιούμε πλήρες μέσο ανάπτυξης (συμπεριλαμβανομένου του FBS) + 10% DMSO για επαρκή βιωσιμότητα μετά την απόψυξη, ή CM-1 (αριθμός καταλόγου Cytion 800100), το οποίο περιλαμβάνει βελτιστοποιημένα ωσμοπροστατευτικά και μεταβολικούς σταθεροποιητές για την ενίσχυση της ανάκαμψης και τη μείωση του στρες που προκαλείται από την κρυοσυντήρηση.

## Κύτταρα FS-C3H | 400418

### Thawing and Culturing Cells

1. Επιβεβαιώστε ότι το φιαλίδιο παραμένει βαθιά παγωμένο κατά την παράδοση, καθώς τα κύτταρα αποστέλλονται σε ξηρό πάγο για να διατηρούνται οι βέλτιστες θερμοκρασίες κατά τη μεταφορά.
2. Κατά την παραλαβή, είτε αποθηκεύστε το κρουφιαλίδιο αμέσως σε θερμοκρασίες κάτω των  $-150^{\circ}\text{C}$  για να διασφαλίσετε τη διατήρηση της κυτταρικής ακεραιότητας, είτε προχωρήστε στο βήμα 3 εάν απαιτείται άμεση καλλιέργεια.
3. Για άμεση καλλιέργεια, αποψύξτε γρήγορα το φιαλίδιο βυθίζοντάς το σε υδατόλουτρο  $37^{\circ}\text{C}$  με καθαρό νερό και αντιμικροβιακό παράγοντα, αναδεύοντας απαλά για 40-60 δευτερόλεπτα μέχρι να παραμείνει ένα μικρό σβόλο πάγου.
4. Εκτελέστε όλα τα επόμενα βήματα υπό αποστειρωμένες συνθήκες σε απορροφητήρα ροής, απολυμαίνοντας το κρουφιαλίδιο με 70% αιθανόλη πριν από το άνοιγμα.
5. Ανοίξτε προσεκτικά το απολυμασμένο φιαλίδιο και μεταφέρετε το εναιώρημα των κυττάρων σε ένα σωληνάριο φυγοκέντρησης των 15 ml που περιέχει 8 ml θρεπτικού μέσου καλλιέργειας σε θερμοκρασία δωματίου, αναμειγνύοντας απαλά.
6. Φυγοκεντρίστε το μείγμα στα 300 x g για 3 λεπτά για να διαχωριστούν τα κύτταρα και απορρίψτε προσεκτικά το υπερκείμενο που περιέχει το υπόλοιπο μέσο κατάψυξης.
7. Επανασυσσωματώστε απαλά το κυτταρικό σφαιρίδιο σε 10 ml φρέσκου μέσου καλλιέργειας. Για προσκολλημένα κύτταρα, μοιράστε το εναιώρημα σε δύο φιάλες καλλιέργειας T25- για καλλιέργειες εναιωρήματος, μεταφέρετε όλο το μέσο σε μία φιάλη T25 για να προωθήσετε την αποτελεσματική αλληλεπίδραση και ανάπτυξη των κυττάρων.
8. Τηρείτε τα καθιερωμένα πρωτόκολλα υποκαλλιέργειας για τη συνεχή ανάπτυξη και διατήρηση της κυτταρικής σειράς, εξασφαλίζοντας αξιόπιστα πειραματικά αποτελέσματα.

### Incubation Atmosphere

$37^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , υγραποιημένη ατμόσφαιρα.

### Flask Coating

Για βέλτιστη προσκόλληση και βιωσιμότητα μετά την απόψυξη, συνιστούμε τη χρήση **φιαλών ή πλακών με επικάλυψη κολλαγόνου**.

### Freezing Procedure

Οι κρουσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των  $-78^{\circ}\text{C}$  καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.

## Κύτταρα FS-C3H | 400418

### Shipping Conditions

Οι κρυοσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$  καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.

### Storage Conditions

Για μακροχρόνια συντήρηση, τοποθετήστε τα φιαλίδια σε υγρό άζωτο σε φάση ατμών σε θερμοκρασία περίπου  $-150$  έως  $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Η αποθήκευση στους  $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$  είναι αποδεκτή μόνο ως σύντομο ενδιάμεσο βήμα πριν από τη μεταφορά σε υγρό άζωτο.

## Ποιοτικός έλεγχος / Γενετικό προφίλ / HLA

### Sterility

Η μόλυνση από μυκόπλασμα αποκλείεται με τη χρήση τόσο των δοκιμασιών που βασίζονται στην PCR όσο και των μεθόδων ανίχνευσης μυκοπλάσματος με βάση τη φωταύγεια.

Για να διασφαλιστεί ότι δεν υπάρχει μόλυνση από βακτήρια, μύκητες ή ζύμες, οι κυτταροκαλλιέργειες υποβάλλονται σε καθημερινές οπτικές επιθεωρήσεις.