

FS-C3H rakud | 400418

Üldine teave

Description

FS-C3H rakuliin, mis on saadud C3H/HeJ hiiretüvest, mängib olulist rolli peremeesorganismi vastuste uurimisel endotoksiinidele, eriti vähiuuringute kontekstis. See tüvi on märkimisväärne oma resistentsuse poolest endotoksiini suhtes, mis tuleneb spetsiifilisest tundmatusest lipopolüsahhariidi (LPS) suhtes, mis on bakteriaalse endotoksiini peamine komponent. See omadus on teinud FS-C3H-st hindamatu väärtusega mudeli immuunvastuse regulatsioonis osalevate biokeemiliste ja geneetiliste radade uurimiseks. Teadlased on seda rakuliini ulatuslikult kasutanud B-lümfotsüütide ja makrofaagide dünaamika uurimiseks, keskendudes nende ainulaadsele mittetundlikkusele LPS-le, mis on vastuolus tüüpiliste immuunraku reaktsioonidega sellistele stiimulitele.

FS-C3H rakkude mittereaktsioonilisus LPSile on tingitud LPSi signaaliülekanne eest vastutava olulise retseptori puudumisest või muutumisest. Uuringud on näidanud, et hoolimata LPSi suhtes mittereaktiivsusest võivad need rakud aktiveeruda alternatiivsete radade kaudu, nagu proteiinkinaas C (PKC) ja türosiini kinaasi signaalimehhanismid, mis on sarnased LPSile reageerivate rakkude aktiveeritud mehhanismidega. Nende kinaaside koostoime ja regulatiivne roll signaaliradadel toob esile keerulised rakusisesed mehhanismid, mis viitavad sellele, et PKC ja türosiinkinase radad võivad kompenseerida defektset LPS-signalisatsiooni. See tähelepanek avab võimalusi uurida, kuidas türosiini kinaasi moduleeritud fosforüülimine mõjutab nende hiirte üldist rakuvastust.

FS-C3H rakkude jätkuv uurimine on kriitilise tähtsusega, et mõista nende hüpoorsuse molekulaarset alust LPSile, mis võib olla seotud geneetilise defektiga Lpsn geenis. Uurides nende rakkude fosforüeerimisprofiile võrreldes LPS-reageerijatega, püüavad teadlased välja selgitada spetsiifilised molekulaarsed defektid, mis põhjustavad geenide muutunud aktiveerimise ja proliferatsioonivastuse. LPS-i koostoime eest vastutava geenitoote isoleerimine ja iseloomustamine võib anda sügavamaid teadmisi immuunsüsteemi talitlushäiretest ja sillutada teed uutele terapeutilistele lähenemisviisidele seotud immuun- ja põletikuhäirete ravimisel.

Organism Hiir

Tissue Nahk

Disease Fibrosarkoom

Omadused

Breed/Subspecies C3H

Growth properties Kinnipeetav

Regulatiivsed andmed

Citation FS-C3H (Cytioni katalooginumber 400418)

FS-C3H rakud | 400418

Biosafety level 1**NCBI_TaxID** 10090**CellosaurusAccession** CVCL_5755**Biomolekulaarsed andmed****Töötlemine****Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/L glükoosi, w: 4 mM L-glutamiini, w: 3,7 g/L NaHCO₃, w: 1,0 mM naatriumpüruvaati (Cytioni artikli number 820300a)**Supplements** Täiendada söötme 10% FBS-ga**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Eemaldage kleepunud rakkudel vana söötme ja peske neid PBS-ga, milles puudub kaltsium ja magneesium. T25 kolbide puhul kasutage 3-5 ml PBS-i ja T75 kolbide puhul 5-10 ml. Seejärel katke rakud täielikult Accutase'iga, kasutades 1-2 ml T25 kolbide puhul ja 2,5 ml T75 kolbide puhul. Laske rakkudel inkubeerida 8-10 minutit toatemperatuuril, et need eralduksid. Pärast inkubeerimist segage rakud ettevaatlikult 10 ml söötmega, et neid resuspenseerida, seejärel tsentrifuugige 3 minutit 300xg juures. Visake supernatant ära, suspenseerige rakud uuesti värskes keskkonnas ja viige need uutesse kolvidesse, mis sisaldavad juba värsket keskkonda.**Seeding density** 2×10^4 rakku/cm²**Fluid renewal** 2 kuni 3 korda nädalas**Freeze medium** Krüosäilitusvedelikusena kasutame täielikku kasvukeskkonda (sh FBS) + 10% DMSO, et tagada piisav elujõulisus pärast sulatamist, või CM-1 (Cytioni katalooginumber 800100), mis sisaldab optimeeritud osmoprotektante ja metaboolseid stabilisaatoreid, et parandada taastumist ja vähendada krüostressi.

FS-C3H rakud | 400418

Thawing and Culturing Cells

1. Veenduge, et vial jääb tarnimisel sügavkülmutatud, sest rakud transporditakse kuiva jääga, et säilitada optimaalne temperatuur transpordi ajal.
2. Pärast kättesaamist säilitage krüoviaal kas kohe temperatuuril alla $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, et tagada rakkude terviklikkuse säilimine, või jätkake sammuga 3, kui on vaja koheselt kultiveerida.
3. Kohese kultiveerimise korral sulatage viali kiiresti, kastes selle $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ veevanni puhta vee ja antimikroobse ainega, segades seda õrnalt 40-60 sekundit, kuni alles jääb väike jääklomp.
4. Tehke kõik järgmised toimingud steriilsetes tingimustes vooluhoodis, desinfitseerides krüoviaal enne avamist 70% etanooliga.
5. Avage desinfitseeritud viali ettevaatlikult ja viige rakususpensioon ettevaatlikult segades 15 ml tsentrifuugitorusse, mis sisaldab 8 ml toatemperatuuril olevat kasvukeskkonda.
6. Rakkude eraldamiseks tsentrifuugige segu 300 x g juures 3 minutit ja visake ülejäänud külmutusvedelikku sisaldav supernatant ettevaatlikult ära.
7. Resuspendeerige rakupellet ettevaatlikult 10 ml värskes kasvukeskkonnas. Adhereerivate rakkude puhul jagage suspensioon kahe T25 kultuurkolvi vahel; suspensioonikultuuride puhul kandke kogu söötme keskkond ühte T25 kolbi, et soodustada rakkude tõhusat koostoimet ja kasvu.
8. Järgige kehtestatud subkultuuriprotokolle rakuliini jätkuvaks kasvuks ja säilitamiseks, tagades usaldusväärsed katsetulemused.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , niisutatud atmosfäär.

Flask Coating

Optimaalse kinnitumise ja elujõulisuse tagamiseks pärast sulatamist soovitame kasutada **kollageeniga kaetud koldeid või plaate**.

Freezing Procedure

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

Shipping Conditions

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

FS-C3H rakud | 400418

**Storage
Conditions**

Pikaajaliseks säilitamiseks asetage viaalid aurufaasis vedela lämmastikuga umbes -150 kuni -196 °C juures. Säilitamine temperatuuril -80 °C on vastuvõetav ainult lühikese vaheetapina enne vedela lämmastikuga üleviimist.

Kvaliteedikontroll / Geneetiline profiil / HLA

Sterility

Mükoplasmakontaminatsioon on välistatud nii PCR-põhiste analüüside kui ka luminesentsil põhinevate mükoplasma tuvastamise meetodite abil.

Bakteriaalse, seene- või pärmsaaste puudumise tagamiseks kontrollitakse rakukultuure iga päev visuaalselt.