

FS-C3H-kennot | 400418

Yleisiä tietoja

Description

C3H/HeJ-hiirikannasta peräisin oleva FS-C3H-solulinja on keskeisessä asemassa tutkittaessa isännän vasteita endotoksiineille erityisesti syöpätutkimuksen yhteydessä. Tämä kanta on tunnettu endotoksiiniresistensistään, joka johtuu erityisestä epäherkkydestä lipopolysakkaridille (LPS), joka on bakteerin endotoksiinin pääkomponentti. Tämä ominaisuus on tehnyt FS-C3H:sta korvaamattoman arvokkaan mallin immuunivasteen säätelyyn liittyvien biokemiallisten ja geneettisten reittien tutkimiseen. Tutkijat ovat käyttäneet tätä solulinjaa laajalti B-lymfosyyttien ja makrofagien dynamiikan tutkimiseen keskittyen niiden ainutlaatuisen reagoimattomuuteen LPS:lle, joka poikkeaa tyypillisistä immuunisolujen reaktioista tällaisiin ärsykkeisiin.

FS-C3H-solujen reagoimattomuus LPS:lle johtuu LPS-signaalin välittämisestä vastaavan ratkaisevan reseptorin puuttumisesta tai muuttumisesta. Tutkimukset ovat osoittaneet, että vaikka nämä solut eivät reagoi LPS:ään, ne voivat aktivoitua vaihtoehtoisten reittien, kuten proteiinikinaasi C:n (PKC) ja tyrosiinikinaasien signaalimekanismien, kautta, jotka ovat samanlaisia kuin ne, jotka aktivoituvat LPS:ään reagoivissa soluissa. Näiden kinaasien vuorovaikutus ja säätelytehtävät signaalireiteissä korostavat monimutkaisia solunsisäisiä mekanismeja, mikä viittaa siihen, että PKC- ja tyrosiinikinaasireitit voisivat kompensoida puutteellista LPS-signaalointia. Tämä havainto avaa mahdollisuuksia tutkia, miten tyrosiinikinaasimoduloitu fosforylaatio vaikuttaa yleisiin soluvasteisiin näissä hiirissä.

FS-C3H-solujen jatkotutkimus on ratkaisevan tärkeää, jotta voidaan ymmärtää niiden LPS-hyposensitiivisuuden molekulaarinen perusta, joka mahdollisesti liittyy geneettiseen vikaan Lpsn-geenissä. Tutkijat pyrkivät selvittämään ne erityiset molekyylivirheet, jotka johtavat geenien muuttuneeseen aktivoitumiseen ja proliferaatiovasteisiin, tutkimalla näiden solujen fosforylaatioprofiileja verrattuna LPS-vasteisiin. LPS-vuorovaikutuksesta vastaavan geenituotteen eristäminen ja karakterisointi voisi tarjota syvällisempää tietoa immuunijärjestelmän toimintahäiriöistä ja tasoittaa tietä uusille terapeuttisille lähestymistavoille niihin liittyvien immuuni- ja tulehdussairauksien hoidossa.

Organism	Hiiri
Tissue	Iho
Disease	Fibrosarkooma

Ominaisuudet

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

Growth properties	Tarttuva
--------------------------	----------

Säätelytiedot

Citation	FS-C3H (Cytionin luettelonumero 400418)
-----------------	---

FS-C3H-kennot | 400418

Biosafety level 1**NCBI_TaxID** 10090**CellosaurusAccession** CVCL_5755**Biomolekyylitiedot****Käsittely****Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/l glukoosia, w: 4 mM L-glutamiinia, w: 3,7 g/l NaHCO₃, w: 1,0 mM natriumpyruvaattia (Cytionin artikkelinumero 820300a)**Supplements** Täydennetään elatusainetta 10 %:lla FBS:llä**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Poista vanha väliaine tarttuneista soluista ja pese ne PBS:llä, josta puuttuu kalsiumia ja magnesiumia. Käytä T25-pulloissa 3-5 ml PBS:ää ja T75-pulloissa 5-10 ml. Peitä sitten solut kokonaan Accutase-valmisteella, käyttäen 1-2 ml T25-pulloissa ja 2,5 ml T75-pulloissa. Anna solujen inkuboitua huoneenlämmössä 8-10 minuuttia solujen irtoamiseksi. Inkuboinnin jälkeen solut sekoitetaan varovasti 10 ml:n väliaineella niiden resuspendoimiseksi ja sentrifugoidaan sitten 300xg:n nopeudella 3 minuutin ajan. Hävitä supernatantti, suspendoi solut uudelleen tuoreessa väliaineessa ja siirrä ne uusiin pulloihin, jotka sisältävät jo tuoretta väliaineita.**Seeding density** 2×10^4 solua/cm²**Fluid renewal** 2-3 kertaa viikossa**Freeze medium** Kryosäilytysmediana käytämme täydellistä kasvualustaa (mukaan lukien FBS) + 10 % DMSO:ta riittävän sulatuksen jälkeisen elinkelpoisuuden varmistamiseksi tai CM-1:tä (Cytionin luettelonumero 800100), joka sisältää optimoituja osmoprotectanteja ja metabolisia stabilisaattoreita, jotka parantavat elpymistä ja vähentävät kryosäilytyksen aiheuttamaa stressiä.

FS-C3H-kennot | 400418

Thawing and Culturing Cells

1. Varmista, että injektiopullo pysyy syväjäädetyttynä toimitettaessa, sillä solut kuljetetaan kuivajäässä, jotta optimaalinen lämpötila säilyy kuljetuksen aikana.
2. Vastaanottaessa kryopullo joko säilytetään välittömästi alle -150 °C:n lämpötilassa solujen eheyden säilyttämiseksi tai edetään vaiheeseen 3, jos tarvitaan välitöntä viljelyä.
3. Välitöntä viljelyä varten sulata injektiopullo nopeasti upottamalla se 37 °C:n vesihauteeseen, jossa on puhdasta vettä ja antimikrobista ainetta, ja sekoittamalla sitä varovasti 40-60 sekunnin ajan, kunnes jäästä on jäljellä pieni jäämöhkäle.
4. Suorita kaikki seuraavat vaiheet steriileissä olosuhteissa virtaushupussa ja desinfioi kryopullo 70-prosenttisellä etanolilla ennen avaamista.
5. Avaa desinfioitu injektiopullo varovasti ja siirrä solususpensio 15 ml:n sentrifugiputkeen, joka sisältää 8 ml huoneenlämpöistä elatusainetta, varovasti sekoittaen.
6. Sentrifugoi seosta 300 x g:n voimakkuudella 3 minuutin ajan solujen erottamiseksi ja hävitä varovasti supernatantti, joka sisältää jäännöspakastusmediumia.
7. Suspendoidaan solupelletti varovasti uudelleen 10 ml:aan tuoretta elatusainetta. Jos solut ovat tarttuvia, jaa suspensio kahden T25-kolvin kesken; jos kyseessä ovat suspensioviljelmät, siirrä kaikki väliaine yhteen T25-kolviin solujen tehokkaan vuorovaikutuksen ja kasvun edistämiseksi.
8. Noudata vakiintuneita aliviljelyprotokollia solulinjan jatkuvan kasvun ja ylläpidon varmistamiseksi ja luotettavien kokeellisten tulosten varmistamiseksi.

Incubation Atmosphere

37 °C, 5 % CO_2 , kostutettu ilmakehä.

Flask Coating

Optimaalisen kiinnittymisen ja elinkelpoisuuden saavuttamiseksi sulatuksen jälkeen suosittelemme **kollageenipinnoitettujen pullojen tai levyjen** käyttöä.

Freezing Procedure

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäässä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

FS-C3H-kennot | 400418

Shipping Conditions

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäässä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

Storage Conditions

Pitkäaikaisäilytystä varten injektiopullot asetetaan höyryfaasissa olevaan nestemäiseen tyypeen noin -150 - -196 °C:een. Säilytys -80 °C:ssa on hyväksyttävää vain lyhyenä välivaiheena ennen siirtoa nestemäiseen tyypeen.

Laadunvalvonta / Geneettinen profiili / HLA

Sterility

Mykoplasmakontaminaatio suljetaan pois sekä PCR-pohjaisilla määrityksillä että luminesenssiin perustuvilla mykoplasman osoitusmenetelmillä.

Bakteeri-, sieni- tai hiivakontaminaation välttämiseksi soluviljelmät tarkastetaan päivittäin silmämääräisesti.