

Celle FS-C3H | 400418

Informazioni generali

Description

La linea cellulare FS-C3H, derivata dal ceppo di topi C3H/HeJ, svolge un ruolo fondamentale nello studio delle risposte dell'ospite alle endotossine, in particolare nel contesto della ricerca sul cancro. Questo ceppo si distingue per la sua resistenza all'endotossina dovuta a una specifica insensibilità al lipopolisaccaride (LPS), uno dei principali componenti dell'endotossina batterica. Questa caratteristica ha reso l'FS-C3H un modello prezioso per analizzare le vie biochimiche e genetiche coinvolte nella regolazione della risposta immunitaria. I ricercatori hanno utilizzato ampiamente questa linea cellulare per esaminare le dinamiche dei linfociti B e dei macrofagi, concentrandosi sulla loro particolare non reattività all'LPS, che contrasta con le tipiche reazioni delle cellule immunitarie a tali stimoli.

La non reattività delle cellule FS-C3H all'LPS è attribuita all'assenza o all'alterazione di un recettore cruciale responsabile della trasduzione del segnale dell'LPS. Gli studi hanno dimostrato che, nonostante la non reattività all'LPS, queste cellule possono essere attivate attraverso vie alternative, come i meccanismi di segnalazione della protein chinasi C (PKC) e della tirosin-chinasi, simili a quelli attivati nelle cellule che rispondono all'LPS. L'interazione e i ruoli regolatori di queste chinasi nelle vie di segnalazione evidenziano complessi meccanismi intracellulari, suggerendo che le vie della PKC e della tirosina chinasi potrebbero compensare la segnalazione difettosa dell'LPS. Questa osservazione apre la strada all'esplorazione di come la fosforilazione modulata dalle tirosin-chinasi influisca sulle risposte cellulari complessive in questi topi.

Il proseguimento della ricerca sulle cellule FS-C3H è fondamentale per comprendere le basi molecolari della loro iporesponsività all'LPS, potenzialmente legata a un difetto genetico del gene *Lpsn*. Approfondendo i profili di fosforilazione di queste cellule rispetto a quelle che rispondono all'LPS, gli scienziati mirano a svelare i difetti molecolari specifici che portano ad alterare l'attivazione genica e le risposte alla proliferazione. L'isolamento e la caratterizzazione del prodotto genico responsabile dell'interazione con l'LPS potrebbero fornire approfondimenti sulle disfunzioni del sistema immunitario e aprire la strada a nuovi approcci terapeutici per il trattamento dei disturbi immunitari e infiammatori correlati.

Organism Mouse

Tissue La pelle

Disease Fibrosarcoma

Caratteristiche

Breed/Subspecies C3H

Growth properties Aderente

Dati normativi

Citation FS-C3H (numero di catalogo Cytion 400418)

Celle FS-C3H | 400418

Biosafety level 1**NCBI_TaxID** 10090**CellosaurusAccession** CVCL_5755**Dati biomolecolari****Manipolazione****Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/L di glucosio, w: 4 mM di L-Glutamina, w: 3,7 g/L di NaHCO₃, w: 1,0 mM di piruvato di sodio (articolo Cytion numero 820300a)**Supplements** Integrare il terreno di coltura con il 10% di FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Rimuovere il vecchio terreno dalle cellule aderenti e lavarle con PBS privo di calcio e magnesio. Per le fiasche T25, utilizzare 3-5 ml di PBS e per le fiasche T75, 5-10 ml. Quindi, coprire completamente le cellule con Accutase, utilizzando 1-2 ml per le fiasche T25 e 2,5 ml per le fiasche T75. Lasciare incubare le cellule a temperatura ambiente per 8-10 minuti per staccarle. Dopo l'incubazione, mescolare delicatamente le cellule con 10 ml di terreno per risospenderle, quindi centrifugare a 300xg per 3 minuti. Scartare il surnatante, risospendere le cellule in terreno fresco e trasferirle in nuove fiasche contenenti terreno fresco.**Split ratio** Si raccomanda un rapporto da 1:5 a 1:20**Seeding density** 2×10^4 cellule/cm²**Fluid renewal** da 2 a 3 volte alla settimana**Freeze medium** Come terreno di crioconservazione, utilizziamo un terreno di crescita completo (incluso FBS) + 10% DMSO per un'adeguata vitalità post-scongelo, o CM-1 (numero di catalogo Cytion 800100), che include osmoprotettori e stabilizzatori metabolici ottimizzati per migliorare il recupero e ridurre lo stress crio-indotto.

Celle FS-C3H | 400418

Thawing and Culturing Cells

1. Verificare che la fiala rimanga profondamente congelata al momento della consegna, poiché le cellule vengono spedite con ghiaccio secco per mantenere le temperature ottimali durante il trasporto.
2. Al ricevimento, conservare immediatamente la criovial a temperature inferiori a -150°C per garantire la conservazione dell'integrità cellulare, oppure procedere al punto 3 se è necessaria una coltura immediata.
3. Per la coltura immediata, scongelare rapidamente la fiala immergendola in un bagno d'acqua a 37°C con acqua pulita e un agente antimicrobico, agitando delicatamente per 40-60 secondi finché non rimane un piccolo grumo di ghiaccio.
4. Eseguire tutte le fasi successive in condizioni di sterilità in una cappa a flusso, disinfettando la criovial con etanolo al 70% prima dell'apertura.
5. Aprire con cautela la fiala disinfettata e trasferire la sospensione cellulare in una provetta da centrifuga da 15 ml contenente 8 ml di terreno di coltura a temperatura ambiente, mescolando delicatamente.
6. Centrifugare la miscela a $300 \times g$ per 3 minuti per separare le cellule e scartare con cura il surnatante contenente il terreno di coltura residuo.
7. Risospendere delicatamente il pellet cellulare in 10 ml di terreno di coltura fresco. Per le cellule aderenti, dividere la sospensione tra due fiasche di coltura T25; per le colture in sospensione, trasferire tutto il terreno in una fiasca T25 per promuovere l'interazione e la crescita delle cellule.
8. Attenersi ai protocolli di subcoltura stabiliti per la crescita e il mantenimento continui della linea cellulare, garantendo risultati sperimentali affidabili.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , atmosfera umidificata.

Flask Coating

Per un attaccamento e una vitalità ottimali dopo lo scongelamento, si consiglia di utilizzare **fiasche o piastre rivestite di collagene**.

Freezing Procedure

Le linee cellulari crioconservate vengono spedite su ghiaccio secco in confezioni isolate e convalidate, con una quantità di refrigerante sufficiente a mantenere circa -78°C durante il trasporto. Al ricevimento, ispezionare immediatamente il contenitore e trasferire immediatamente le fiale in un luogo di conservazione appropriato.

Celle FS-C3H | 400418

Shipping Conditions

Le linee cellulari crioconservate vengono spedite su ghiaccio secco in confezioni isolate e convalidate, con una quantità di refrigerante sufficiente a mantenere circa -78 °C durante il trasporto. Al ricevimento, ispezionare immediatamente il contenitore e trasferire immediatamente le fiale in un luogo di conservazione appropriato.

Storage Conditions

Per la conservazione a lungo termine, porre le fiale in azoto liquido in fase vapore a una temperatura compresa tra -150 e -196 °C circa. La conservazione a -80 °C è accettabile solo come breve fase intermedia prima del trasferimento in azoto liquido.

Controllo di qualità / Profilo genetico / HLA

Sterility

La contaminazione da micoplasma viene esclusa utilizzando sia saggi basati sulla PCR sia metodi di rilevamento del micoplasma basati sulla luminescenza.

Per garantire l'assenza di contaminazione batterica, fungina o da lieviti, le colture cellulari sono sottoposte a ispezioni visive quotidiane.