

FS-C3H ląstelės | 400418

Bendra informacija

Description

FS-C3H ląstelių linija, gauta iš C3H/HeJ pelių padermės, atlieka svarbų vaidmenį tiriant šeimininko reakciją į endotoksinus, ypač vėžio tyrimų kontekste. Ši padermė išsiskiria atsparumu endotoksiniui dėl specifinio nejautrumo lipopolisacharidui (LPS), pagrindiniam bakterijų endotoksino komponentui. Dėl šios savybės FS-C3H tapo neįkainojamu modeliu biocheminiams ir genetiniams imuninio atsako reguliavimo keliams tirti. Mokslininkai plačiai naudojo šią ląstelių liniją B limfocitų ir makrofagų dinamikai tirti, daugiausia dėmesio skirdami unikaliai jų nereagavimui į LPS, kuris skiriasi nuo tipišku imuninių ląstelių reakcijų į tokius dirgiklius.

FS-C3H ląstelių nereagavimas į LPS siejamas su esminio receptoriaus, atsakingo už LPS signalo perdavimą, nebuvimu arba jo pakitimu. Tyrimai parodė, kad, nepaisant nereagavimo į LPS, šios ląstelės gali būti aktyvuojamos alternatyviais keliais, pavyzdžiui, baltymų kinazės C (PKC) ir tirozino kinazės signaliniais mechanizmais, panašiais į tuos, kurie aktyvuojami į LPS reaguojančiose ląstelėse. Šių kinazių sąveika ir reguliacinis vaidmuo signaliniuose keliuose išryškina sudėtingus viduląstelinius mechanizmus, leidžiančius manyti, kad PKC ir tirozino kinazių keliai gali kompensuoti defektinį LPS signalą. Šis pastebėjimas atveria galimybes ištirti, kaip tirozinkinazėmis reguliuojamas fosforilinimas veikia bendrą šių pelių ląstelių atsaką.

Tęsiant FS-C3H ląstelių tyrimus labai svarbu suprasti jų hiporeakcijos į LPS molekulinį pagrindą, kuris gali būti susijęs su genetiniu Lpsn geno defektu. Gilindamiesi į šių ląstelių fosforilimo profilius, palyginti su ląstelėmis, reaguojančiomis į LPS, mokslininkai siekia išsiaiškinti konkrečius molekulinis defektus, lemiančius pakitusį genų aktyvumą ir proliferacijos reakciją. Už LPS sąveiką atsakingo geno produkto išskyrimas ir apibūdinimas galėtų padėti geriau suprasti imuninės sistemos sutrikimus ir nutiesti kelią naujiems terapiniams metodams gydant susijusius imuninius ir uždegiminius sutrikimus.

Organism	Pelė
Tissue	Odos
Disease	Fibrosarkoma

Charakteristikos

Breed/Subspecies	C3H
Growth properties	Priglundęs

Reguliavimo duomenys

Citation	FS-C3H (Cytion katalogo numeris 400418)
Biosafety level	1

FS-C3H ląstelės | 400418

NCBI_TaxID 10090

CellosaurusAccession CVCL_5755

Biomolekuliniai duomenys

Tvarkymas

Culture Medium DMEM, š: 4,5 g/l gliukozės, š: 4 mM L-glutamino, š: 3,7 g/l NaHCO₃, š: 1,0 mM natrio piruvato (Cytion gaminio numeris 820300a)

Supplements Papildykite terpę 10 % FBS

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Pašalinkite seną terpę nuo prilipusių ląstelių ir nuplaukite jas PBS, kuriame nėra kalcio ir magnio. T25 kolboms naudokite 3-5 ml PBS, o T75 kolboms - 5-10 ml. Tuomet visiškai užpilkite ląsteles "Accutase", naudodami 1-2 ml T25 kolboms ir 2,5 ml T75 kolboms. Leiskite ląstelėms inkubuotis kambario temperatūroje 8-10 minučių, kad jos atsiskirtų. Po inkubacijos atsargiai sumaišykite ląsteles su 10 ml terpės, kad jos vėl suspenduotų, tada 3 minutes centrifuguokite 300xg greičiu. Išmeskite supernatantą, vėl sutirpinkite ląsteles šviežioje terpėje ir perkeltite jas į naujas kolbas, kuriose jau yra šviežia terpė.

Seeding density 2×10^4 ląstelės/cm²

Fluid renewal 2-3 kartus per savaitę

Freeze medium Kaip kriokonservavimo terpę naudojame visišką augimo terpę (įskaitant FBS) + 10 % DMSO, kad būtų užtikrintas tinkamas gyvybingumas po atšildymo, arba CM-1 (Cytion katalogo numeris 800100), kurioje yra optimizuotų osmoprotektorių ir medžiagų apykaitos stabilizatorių, kad būtų pagerintas atsigavimas ir sumažintas kriokonservavimo sukeltas stresas.

FS-C3H ląstelės | 400418

Thawing and Culturing Cells

1. Patikrinkite, ar pristatant buteliuką jis išlieka gerai užšaldytas, nes ląstelės gabenamos ant sauso ledo, kad gabenimo metu būtų palaikoma optimali temperatūra.
2. Gavę iš karto laikykite kriovialą žemesnėje nei -150°C temperatūroje, kad užtikrintumėte ląstelių vientisumo išsaugojimą, arba pereikite prie 3 veiksmo, jei reikia nedelsiant kultivuoti.
3. Jei norite nedelsiant pradėti kultivuoti, greitai atšildykite buteliuką panardindami jį į 37°C temperatūros vandens vonelę su švriu vandeniu ir antimikrobine priemone, švelniai maišydami 40-60 sekundžių, kol liks nedidelis ledo gabalėlis.
4. Visus tolesnius veiksmus atlikite steriliomis sąlygomis srauto gaubte, prieš atidarydami kriovialą dezinfekuokite jį 70 % etanoliu.
5. Atsargiai atidarykite dezinfekuotą buteliuką ir perpilkite ląstelių suspensiją į 15 ml centrifugos mėgintuvėlį, kuriame yra 8 ml kambario temperatūros mitybinės terpės, atsargiai išmaišykite.
6. Mišinį centrifuguokite 300 x g greičiu 3 minutes, kad atsiskirtų ląstelės, ir atsargiai išmeskite supernatantą su šaldymo terpės likučiais.
7. Švelniai resuspenduokite ląstelių granules 10 ml šviežios mitybinės terpės. Jei ląstelės yra prigludusios, suspensiją padalykite į dvi T25 kolbas; jei tai suspensinės kultūros, visą terpę perkelkite į vieną T25 kolbą, kad paskatintumėte veiksmingą ląstelių sąveiką ir augimą.
8. Laikykitės nustatytų subkultūrų protokolų, kad ląstelių linija nuolat augtų ir būtų palaikoma, taip užtikrinant patikimus eksperimentų rezultatus.

Incubation Atmosphere

37°C , 5 % CO_2 , drėkintoje atmosferoje.

Flask Coating

Kad po atšildymo būtų užtikrintas optimalus prisitvirtinimas ir gyvybingumas, rekomenduojame naudoti **kolagenu dengtas kolbas arba plokšteles**.

Freezing Procedure

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug -78°C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelkite mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

FS-C3H ląstelės | 400418

Shipping Conditions

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelkite mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

Storage Conditions

Norėdami ilgai saugoti, įdėkite buteliukus į garų fazės skystą azotą maždaug $-150\text{--}196\text{ }^{\circ}\text{C}$ temperatūroje. Laikymas $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ temperatūroje yra priimtinas tik kaip trumpas tarpinis etapas prieš perkeliant į skystąjį azotą.

Kokybės kontrolė / Genetinis profilis / HLA

Sterility

Mikoplazmos užterštumas atmetamas taikant PGR pagrįstus tyrimus ir liuminescencinius mikoplazmos aptikimo metodus.

Siekiant užtikrinti, kad nebūtų užteršimo bakterijomis, grybeliais ar mielėmis, ląstelių kultūros kasdien vizualiai tikrinamos.