

FS-C3H šūnas | 400418

Vispārīga informācija

Description

FS-C3H šūnu līnijai, kas iegūta no C3H/HeJ peļu celma, ir būtiska nozīme saimnieka reakcijas uz endotoksīniem izpētē, jo īpaši vēža izpētes kontekstā. Šis celms izceļas ar savu rezistenci pret endotoksīnu, ko izraisa īpaša nejutība pret lipopolisaharīdu (LPS), kas ir galvenā baktēriju endotoksīna sastāvdaļa. Šī īpašība ir padarījusi FS-C3H par nenovērtējamu modeli bioķīmisko un ģenētisko ceļu, kas saistīti ar imūnreakcijas regulēšanu, izpētei. Pētnieki ir plaši izmantojuši šo šūnu līniju, lai pētītu B limfocītu un makrofāgu dinamiku, pievēršot uzmanību to unikālajai nereaģētībai uz LPS, kas kontrastē ar tipiskajām imūnšūnu reakcijām uz šādiem stimuliem.

FS-C3H šūnu nereaģētība uz LPS tiek skaidrota ar to, ka trūkst vai ir izmainīts būtisks receptors, kas atbildīgs par LPS signāla pārnesei. Pētījumi liecina, ka, neraugoties uz nereaģēšanu uz LPS, šīs šūnas var aktivizēties, izmantojot alternatīvus ceļus, piemēram, proteīnkināzes C (PKC) un tirozīnkināzes signalizācijas mehānismus, kas ir līdzīgi tiem, kuri aktivizējas šūnās, reaģējot uz LPS. Šo kināžu mijiedarbība un regulējošās lomas signalizācijas ceļos izceļ sarežģītus iekššūnu mehānismus, kas liecina, ka PKC un tirozīnkināžu ceļi varētu kompensēt bojāto LPS signalizāciju. Šis novērojums paver iespējas izpētīt, kā tirozīnkināzes modulēta fosforilēšana ietekmē šo peļu vispārējo šūnu atbildes reakciju.

Turpinot pētījumus ar FS-C3H šūnām, ir ļoti svarīgi izprast to hiporeāģētspējas uz LPS molekulāro pamatu, kas, iespējams, ir saistīts ar ģenētisku defektu Lpsn gēnā. Izpētot šo šūnu fosforilēšanas profilus salīdzinājumā ar šūnām, kas reaģē uz LPS, zinātnieku mērķis ir atklāt specifiskus molekulārus defektus, kas izraisa izmainītu gēnu aktivāciju un proliferācijas reakciju. Par LPS mijiedarbību atbildīgā gēna produkta izolēšana un raksturošana varētu sniegt dziļāku ieskatu imūnsistēmas disfunkcijās un pavērt ceļu jaunām terapeitiskām pieejām saistīto imūnās un iekaisuma slimību ārstēšanā.

Organism	Pele
Tissue	Āda
Disease	Fibrosarkoma

Raksturojums

Breed/Subspecies	C3H
Growth properties	Adherent

Normatīvie dati

Citation	FS-C3H (Cytion kataloga numurs 400418)
Biosafety level	1

FS-C3H šūnas | 400418

NCBI_TaxID 10090

CellosaurusAccession CVCL_5755

Biomolekulārie dati

Darbs ar

Culture Medium DMEM, w: 4,5 g/l glikozes, w: 4 mM L-glutamīna, w: 3,7 g/l NaHCO₃, w: 1,0 mM nātrija piruvāta (Cytion izstrādājuma numurs 820300a)**Supplements** Papildināt barotni ar 10% FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Noņemt veco barotni no pielipušajām šūnām un mazgāt tās ar PBS, kurā nav kalcija un magnija. T25 kolbām izmantotiet 3-5 ml PBS, bet T75 kolbām - 5-10 ml. Pēc tam pilnībā pārklāiet šūnas ar Accutase, izmantojot 1-2 ml T25 kolbām un 2,5 ml T75 kolbām. Ļaujiet šūnām inkubēties istabas temperatūrā 8-10 minūtes, lai tās atdalītos. Pēc inkubācijas uzmanīgi samaisiet šūnas ar 10 ml barotnes, lai tās atkārtoti suspendētu, pēc tam centrifugējiet 3 minūtes ar 300xg. Izmetiet supernatantu, atkārtoti suspendējiet šūnas svaigā barotnē un pārvietojiet tās jaunās kolbās, kurās jau ir svaiga barotne.**Seeding density** 2×10^4 šūnas/cm²**Fluid renewal** 2 līdz 3 reizes nedēļā**Freeze medium** Kā kriokonservēšanas barotni mēs izmantojam pilnvērtīgu augšanas barotni (ieskaitot FBS) + 10 % DMSO, lai nodrošinātu pietiekamu dzīvotspēju pēc atkausēšanas, vai CM-1 (Cytion kataloga numurs 800100), kas ietver optimizētus osmoprotektorus un metaboliskos stabilizatorus, lai uzlabotu atveseļošanos un samazinātu krioinducēto stresu.

FS-C3H šūnas | 400418

Thawing and Culturing Cells

1. Pārliecinieties, ka pēc piegādes flakons paliek dziļi sasaldēts, jo šūnas tiek sūtītas uz sausā ledus, lai pārvadāšanas laikā saglabātu optimālu temperatūru.
2. Pēc saņemšanas vai nu nekavējoties uzglabāt kriovialu temperatūrā, kas zemāka par -150 °C, lai nodrošinātu šūnu integritātes saglabāšanu, vai arī turpināt 3. posmu, ja nepieciešama tūlītēja kultivēšana.
3. Tūlītējas kultivēšanas gadījumā ātri atkausējiet flakonu, iegremdējot to 37°C ūdens vannā ar tīru ūdeni un antibakteriālu līdzekli, viegli maisot 40-60 sekundes, līdz paliek neliels ledus gabaliņš.
4. Visas turpmākās darbības veiciet sterilos apstākļos plūsmas nosūcējā, pirms atvēršanas dezinficējot kriovialu ar 70% etanolu.
5. Uzmanīgi atveriet dezinficēto flakonu un pārnesiet šūnu suspensiju 15 ml centrifūgas mēģenē, kurā ir 8 ml istabas temperatūras barotnes, uzmanīgi samaisot.
6. Centrifugējiet maisījumu ar 300 x g 3 minūtes, lai atdalītu šūnas, un uzmanīgi izmetiet virskārtu, kas satur saldēšanas barotnes atlikumus.
7. Viegli resuspendēt šūnu granulas 10 ml svaigas barotnes. Adhēzijas šūnu gadījumā suspensiju sadalīt divās T25 kolbās; suspensijas kultūrām visu barotni pārnest vienā T25 kolbā, lai veicinātu efektīvu šūnu mijiedarbību un augšanu.
8. Ievērojiet noteiktos subkultūru protokolus, lai nodrošinātu nepārtrauktu šūnu līnijas augšanu un uzturēšanu, tādējādi nodrošinot uzticamus eksperimentu rezultātus.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO₂, mitrināta atmosfēra.

Flask Coating

Optimālai piestiprināšanai un dzīvotspējai pēc atkausēšanas ieteicams izmantot **ar kolagēnu pārklātas kolbas vai plates**.

Freezing Procedure

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidrums daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

FS-C3H šūnas | 400418

**Shipping
Conditions**

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidrums daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

**Storage
Conditions**

Ilgstošai uzglabāšanai flakonus ievietojiet šķidrā slāpekļī ar tvaika fāzi aptuveni -150 līdz -196 °C temperatūrā. Uzglabāšana -80 °C temperatūrā ir pieļaujama tikai kā īss starposms pirms pārvietošanas uz šķidro slāpekli.

Kvalitātes kontrole / Ģenētiskais profils / HLA

Sterility

Mikoplazmas piesārņojums tiek izslēgts, izmantojot gan uz PCR balstītus testus, gan uz luminiscenci balstītas mikoplazmas noteikšanas metodes.

Lai pārlicinātos, ka nav baktēriju, sēnīšu vai rauga piesārņojuma, šūnu kultūras katru dienu vizuāli pārbauda.