

Komórki CFSC-8B | 305471

Informacje ogólne

Description

CFSC-8B to klonalna linia komórek gwiaździstych wątroby (HSC) szczura, wyhodowana z tkanki wątroby dotkniętej marskością i stanowiąca jeden z kilku subklonów uzyskanych ze spontanicznie unieśmiertelnionych komórek CFSC gromadzących tłuszcz. Populację macierzystą CFSC uzyskano z komórek gwiaździstych wątroby izolowanych od samców szczurów rasy Wistar z marskością wątroby wywołaną czterochlorkiem węgla. Po wielokrotnych pasażowaniach i oczyszczaniu metodą gradientową, poprzez rozcieńczanie ograniczające uzyskano poszczególne klony, spośród których wybrano CFSC-8B i scharakteryzowano go jako stabilną, nieustannie proliferującą linię. Jak podsumowano w sekcji „NFSC, CFSC i pochodne” niniejszego przeglądu (strona 709), CFSC-8B należy do grupy klonów komórek gwiaździstych pochodzących z marskości wątroby, które wykazują wyraźną heterogenność klonalną pod względem proliferacji i produkcji macierzy pozakomórkowej: contentReference[oaicite:0]{index=0}.

CFSC-8B wykazuje fenotyp podobny do miofibroblastów, zgodny z aktywowanymi komórkami gwiaździstymi wątroby. Komórki te są jednojądrzaste, o morfologii wrzecionowatej oraz cytoplazmie bogatej w wolne rybosomy i obfitującą w szorstką retikulum endoplazmatyczne. Ekspresują desminę i wimentynę oraz syntetyzują kluczowe składniki macierzy pozakomórkowej, w tym kolagen typu I i III, fibronektynę oraz lamininę. W porównaniu z liniami komórkowymi komórek gwiaździstych pochodzących z prawidłowej wątroby (NFSC) klony CFSC pochodzące z marskości wątroby, takie jak CFSC-8B, zawierają mniej kropelek lipidowych i wykazują bardziej wyraźny fenotyp włóknistej macierzy pozakomórkowej. Analizy funkcjonalne wykazały reaktywność na cytokiny profibrogenne, w tym transformujący czynnik wzrostu β (TGF- β), z indukcją ekspresji genów kolagenu, a także regulację tkankowego inhibitora metaloproteinaz-1 (TIMP-1) i innych białek związanych z macierzą.

Ze względu na stabilny fenotyp aktywowany, intensywną produkcję macierzy pozakomórkowej oraz reaktywność na cytokiny, CFSC-8B jest szeroko stosowany jako model in vitro transdycerencjonowanych komórek gwiaździstych wątroby w kontekście zwłóknienia wątroby. Jednak, jak omówiono w przeglądzie, unieśmiertelnione linie HSC, w tym pochodne CFSC, wykazują dryf genotypowy i fenotypowy i nie odzwierciedlają w pełni dynamicznego przejścia ze stanu spoczynku do stanu aktywacji obserwowanego w pierwotnych komórkach gwiaździstych: contentReference[oaicite:1]{index=1}. Dlatego CFSC-8B nadaje się szczególnie do badań mechanistycznych sygnalizacji fibrogenicznej, regulacji macierzy zewnątrzkomórkowej oraz interwencji przeciwzwłóknieniowych w warunkach modelujących ustaloną aktywację komórek gwiaździstych.

Organism Szczur**Tissue** Wątroba

Charakterystyka

Age Dorosły**Gender** Mężczyzna**Cell type** Komórka gwiaździsta wątroby

Komórki CFSC-8B | 305471

Growth
properties

Adherent

Dane regulacyjne

Citation CFSC-8B (numer katalogowy Cytion 305471)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 10116**CellosaurusAccession** CVCL_4U37

Dane biomolekularne

Obsługa

Culture Medium DMEM, w: 4,5 g/l glukozy, w: 4 mM L-glutaminy, w: 3,7 g/l NaHCO₃, w: 1,0 mM pirogronianu sodu (numer artykułu Cytion 820300a)**Supplements** Uzupełnić podłoże 10% FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Seeding density** $1-3 \times 10^4/\text{cm}^2$ **Freeze medium** Jako pożywki do kriokonserwacji używamy kompletnej pożywki wzrostowej + 10% DMSO w celu zapewnienia odpowiedniej żywotności po rozmrożeniu.

Komórki CFSC-8B | 305471**Thawing and
Culturing Cells**

1. Upewnij się, że fiolka pozostaje głęboko zamrożona w momencie dostawy, ponieważ komórki są wysyłane w suchym lodzie, aby utrzymać optymalną temperaturę podczas transportu.
2. Po otrzymaniu należy natychmiast przechowywać fiolkę w temperaturze poniżej -150°C , aby zapewnić zachowanie integralności komórek, lub przejść do kroku 3, jeśli wymagana jest natychmiastowa hodowla.
3. W przypadku natychmiastowej hodowli należy szybko rozmrozić fiolkę, zanurzając ją w łaźni wodnej o temperaturze 37°C z czystą wodą i środkiem przeciwdrobnoustrojowym, delikatnie mieszając przez 40-60 sekund, aż pozostanie niewielka grudka lodu.
4. Wykonaj wszystkie kolejne kroki w sterylnych warunkach w kapturze przepływowej, dezynfekując fiolkę 70% etanolem przed otwarciem.
5. Ostrożnie otworzyć zdezynfekowaną fiolkę i przenieść zawiesinę komórek do 15 ml probówki wirówkowej zawierającej 8 ml podłoża hodowlanego o temperaturze pokojowej, delikatnie mieszając.
6. Wirować mieszaninę z prędkością $200 \times g$ przez 5 minut, ostrożnie odrzucić supernatant zawierający pożywkę do zamrażania.
7. Postępować zgodnie z procedurą opisaną w sekcji Odzyskiwanie po rozmrożeniu

**Incubation
Atmosphere**

37°C , 5% CO_2 , nawilżona atmosfera.

**Shipping
Conditions**

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

**Storage
Conditions**

W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiolki w ciekłym azocie w fazie lotnej w temperaturze od -150 do -196°C . Przechowywanie w temperaturze -80°C jest dopuszczalne tylko jako krótki etap przejściowy przed przeniesieniem do ciekłego azotu.

Kontrola jakości i analiza molekularna