

## Ogniwa FS-C3H | 400418

## Informacje ogólne

## Description

Linia komórkowa FS-C3H, wywodząca się ze szczepu myszy C3H/HeJ, odgrywa kluczową rolę w badaniu odpowiedzi gospodarza na endotoksyny, szczególnie w kontekście badań nad rakiem. Szczep ten wyróżnia się odpornością na endotoksyny ze względu na specyficzną niewrażliwość na lipopolisacharyd (LPS), główny składnik endotoksyny bakteryjnej. Cecha ta sprawiła, że FS-C3H stał się nieocenionym modelem do badania biochemicznych i genetycznych szlaków zaangażowanych w regulację odpowiedzi immunologicznej. Naukowcy szeroko wykorzystywali tę linię komórkową do badania dynamiki limfocytów B i makrofagów, koncentrując się na ich unikalnej braku odpowiedzi na LPS, co kontrastuje z typowymi reakcjami komórek odpornościowych na takie bodźce.

Brak odpowiedzi komórek FS-C3H na LPS przypisuje się brakowi lub zmianie kluczowego receptora odpowiedzialnego za transdukcję sygnału LPS. Badania wykazały, że pomimo braku reakcji na LPS, komórki te mogą być aktywowane poprzez alternatywne szlaki, takie jak kinaza białkowa C (PKC) i mechanizmy sygnalizacyjne kinazy tyrozynowej, podobne do tych aktywowanych w komórkach reagujących na LPS. Interakcje i role regulacyjne tych kinaz w szlakach sygnałowych podkreślają złożone mechanizmy wewnątrzkomórkowe, sugerując, że szlaki PKC i kinazy tyrozynowej mogą kompensować wadliwą sygnalizację LPS. Ta obserwacja otwiera drogę do zbadania, w jaki sposób fosforylacja modulowana przez kinazy tyrozynowe wpływa na ogólną odpowiedź komórkową u tych myszy.

Dalsze badania nad komórkami FS-C3H mają kluczowe znaczenie dla zrozumienia molekularnych podstaw ich hiporesponsywności na LPS, potencjalnie związanej z defektem genetycznym genu *Lpsn*. Zagłębiając się w profile fosforylacji tych komórek w porównaniu z komórkami reagującymi na LPS, naukowcy dążą do odkrycia specyficznych defektów molekularnych, które prowadzą do zmienionej aktywacji genów i odpowiedzi proliferacyjnych. Wyizolowanie i scharakteryzowanie produktu genowego odpowiedzialnego za interakcję z LPS może zapewnić głębszy wgląd w dysfunkcje układu odpornościowego i uutorować drogę do nowych podejść terapeutycznych w leczeniu powiązanych zaburzeń immunologicznych i zapalnych.

## Organism

Mysz

## Tissue

Skóra

## Disease

Włóknakiomięsak

## Charakterystyka

## Breed/Subspecies

C3H

## Growth properties

Adherent

## Dane regulacyjne

## Citation

FS-C3H (numer katalogowy Cytion 400418)

## Ogniwa FS-C3H | 400418

<b>Biosafety level</b>	1
<b>NCBI_TaxID</b>	10090
<b>CellosaurusAccession</b>	CVCL_5755

## Dane biomolekularne

## Obsługa

<b>Culture Medium</b>	DMEM, w: 4,5 g/l glukozy, w: 4 mM L-glutaminy, w: 3,7 g/l NaHCO <sub>3</sub> , w: 1,0 mM pirogronianu sodu (numer artykułu Cytion 820300a)
-----------------------	--

<b>Supplements</b>	Uzupełnić podłoże 10% FBS
--------------------	---------------------------

<b>Dissociation Reagent</b>	Accutase
-----------------------------	----------

<b>Subculturing</b>	Usuń starą pożywkę z przylegających komórek i przemyj je PBS, który nie zawiera wapnia i magnezu. W przypadku kolb T25 należy użyć 3-5 ml PBS, a w przypadku kolb T75 5-10 ml. Następnie całkowicie pokryj komórki Accutase, używając 1-2 ml dla kolb T25 i 2,5 ml dla kolb T75. Pozwól komórkom inkubować w temperaturze pokojowej przez 8-10 minut, aby je oddzielić. Po inkubacji delikatnie wymieszaj komórki z 10 ml pożywki, aby ponownie je zawiesić, a następnie odwiruj przy 300xg przez 3 minuty. Odrzucić supernatant, ponownie zawiesić komórki w świeżej pożywce i przenieść je do nowych kolb zawierających już świeżą pożywkę.
---------------------	---

<b>Split ratio</b>	Zalecane są proporcje od 1:5 do 1:20
--------------------	--------------------------------------

<b>Seeding density</b>	$2 \times 10^4$ komórek/cm <sup>2</sup>
------------------------	---

<b>Fluid renewal</b>	2 do 3 razy w tygodniu
----------------------	------------------------

<b>Freeze medium</b>	Jako pożywki do kriokonserwacji używamy kompletnej pożywki wzrostowej (w tym FBS) + 10% DMSO w celu zapewnienia odpowiedniej żywotności po rozmrożeniu lub CM-1 (numer katalogowy Cytion 800100), która zawiera zoptymalizowane osmoprotektanty i stabilizatory metaboliczne w celu zwiększenia regeneracji i zmniejszenia stresu wywołanego kriokonserwacją.
----------------------	---

## Ogniwa FS-C3H | 400418

### 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  $-150^{\circ}\text{C}$ , 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  $37^{\circ}\text{C}$  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  $300 \times g$  przez 3 minuty w celu oddzielenia komórek i ostrożnie odrzucić supernatant zawierający pozostałości pożywki do zamrażania.
7. Delikatnie ponownie zawiesić osad komórek w 10 ml świeżego podłoża hodowlanego. W przypadku komórek przylegających, rozdzielić zawiesinę pomiędzy dwie kolby hodowlane T25; w przypadku hodowli zawieszonych, przenieść całą pożywkę do jednej kolby T25 w celu promowania skutecznej interakcji i wzrostu komórek.
8. Przestrzegaj ustalonych protokołów podhodowli w celu ciągłego wzrostu i utrzymania linii komórkowej, zapewniając wiarygodne wyniki eksperymentów.

### Incubation Atmosphere

$37^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , nawilżona atmosfera.

### Flask Coating

Brak

### Freezing Procedure

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

## Ogniwa FS-C3H | 400418

### Shipping Conditions

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

### Storage Conditions

W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiołki w ciekłym azocie w fazie lotnej w temperaturze od  $-150$  do  $-196^{\circ}\text{C}$ . Przechowywanie w temperaturze  $-80^{\circ}\text{C}$  jest dopuszczalne tylko jako krótki etap przejściowy przed przeniesieniem do ciekłego azotu.

## Kontrola jakości / Profil genetyczny / HLA

### Sterility

Zanieczyszczenie mykoplazmą jest wykluczane przy użyciu zarówno testów opartych na PCR, jak i metod wykrywania mykoplazmy opartych na luminescencji.

Aby upewnić się, że nie ma zanieczyszczenia bakteriami, grzybami lub drożdżami, hodowle komórkowe są poddawane codziennym kontrolom wizualnym.