

Células FS-C3H | 400418**Informações gerais****Description**

A linha de células FS-C3H, derivada da estirpe de ratinhos C3H/HeJ, desempenha um papel fundamental no estudo das respostas do hospedeiro às endotoxinas, nomeadamente no contexto da investigação sobre o cancro. Esta estirpe é notável pela sua resistência à endotoxina devido a uma insensibilidade específica ao lipopolissacárido (LPS), um dos principais componentes da endotoxina bacteriana. Esta característica fez do FS-C3H um modelo inestimável para dissecar as vias bioquímicas e genéticas envolvidas na regulação da resposta imunitária. Os investigadores utilizaram extensivamente esta linha celular para examinar a dinâmica dos linfócitos B e dos macrófagos, concentrando-se na sua não reatividade única ao LPS, que contrasta com as reacções típicas das células imunitárias a tais estímulos.

A não-responsividade das células FS-C3H ao LPS é atribuída à ausência ou alteração de um recetor crucial responsável pela transdução de sinal do LPS. Estudos têm demonstrado que, apesar da não reatividade ao LPS, estas células podem ser activadas através de vias alternativas como a proteína quinase C (PKC) e mecanismos de sinalização de tirosina quinase, semelhantes aos activados em células responsivas ao LPS. A interação e os papéis reguladores destas cinases nas vias de sinalização evidenciam mecanismos intracelulares complexos, sugerindo que as vias da PKC e da tirosina quinase poderiam compensar a sinalização deficiente do LPS. Esta observação abre caminhos para explorar a forma como a fosforilação modulada por tirosina quinase afecta as respostas celulares globais nestes ratos.

A continuação da investigação nas células FS-C3H é fundamental para compreender a base molecular da sua hiporesponsividade ao LPS, potencialmente ligada a um defeito genético no gene *Lpsn*. Ao analisar os perfis de fosforilação destas células em comparação com as que respondem a LPS, os cientistas pretendem desvendar os defeitos moleculares específicos que levam a respostas alteradas de ativação e proliferação de genes. O isolamento e a caracterização do produto genético responsável pela interação com o LPS podem fornecer conhecimentos mais profundos sobre as disfunções do sistema imunitário e abrir caminho a novas abordagens terapêuticas no tratamento de doenças imunitárias e inflamatórias relacionadas.

Organism

Rato

Tissue

Pele

Disease

Fibrossarcoma

Caraterísticas**Breed/Subspecies**

C3H

Growth properties

Aderente

Dados regulamentares**Citation**

FS-C3H (número de catálogo Cytion 400418)

Células FS-C3H | 400418

Biosafety level	1
NCBI_TaxID	10090
CellosaurusAccession	CVCL_5755

Dados biomoleculares**Manuseamento**

Culture Medium	DMEM, com: 4,5 g/L de glucose, com: 4 mM de L-Glutamina, com: 3,7 g/L de NaHCO ₃ , com: 1,0 mM de piruvato de sódio (número de artigo Cytion 820300a)
-----------------------	--

Supplements	Completar o meio com 10% de FBS
--------------------	---------------------------------

Dissociation Reagent	Accutase
-----------------------------	----------

Subculturing	Retirar o meio antigo das células aderentes e lavá-las com PBS sem cálcio e magnésio. Nos frascos T25, utilizar 3-5 ml de PBS e, nos frascos T75, 5-10 ml. Em seguida, cobrir completamente as células com Accutase, utilizando 1-2 ml para os frascos T25 e 2,5 ml para os frascos T75. Deixar as células incubar à temperatura ambiente durante 8-10 minutos para as destacar. Após a incubação, misturar suavemente as células com 10 ml de meio para as ressuspender e, em seguida, centrifugar a 300xg durante 3 minutos. Deitar fora o sobrenadante, ressuspender as células em meio fresco e transferi-las para novos frascos que já contenham meio fresco.
---------------------	--

Seeding density	2×10^4 células/cm ²
------------------------	---

Fluid renewal	2 a 3 vezes por semana
----------------------	------------------------

Freeze medium	Como meio de criopreservação, utilizamos um meio de crescimento completo (incluindo FBS) + 10% DMSO para uma viabilidade pós-descongelamento adequada, ou CM-1 (número de catálogo Cytion 800100), que inclui osmoprotectores otimizados e estabilizadores metabólicos para melhorar a recuperação e reduzir o stress induzido pela crio.
----------------------	---

Células FS-C3H | 400418

Thawing and Culturing Cells

1. Confirme que o frasco permanece profundamente congelado aquando da entrega, uma vez que as células são enviadas em gelo seco para manter as temperaturas ideais durante o transporte.
2. Após a receção, armazenar o frasco criogénico imediatamente a temperaturas inferiores a -150°C para garantir a preservação da integridade celular, ou avançar para o passo 3 se for necessária uma cultura imediata.
3. Para uma cultura imediata, descongelar rapidamente o frasco imergindo-o num banho de água a 37°C com água limpa e um agente antimicrobiano, agitando suavemente durante 40-60 segundos até ficar um pequeno aglomerado de gelo.
4. Efetuar todos os passos subsequentes em condições estéreis numa capela de fluxo, desinfetando o frasco criogénico com etanol a 70% antes de o abrir.
5. Abrir cuidadosamente o frasco desinfetado e transferir a suspensão de células para um tubo de centrifugação de 15 ml contendo 8 ml de meio de cultura à temperatura ambiente, misturando suavemente.
6. Centrifugar a mistura a $300 \times g$ durante 3 minutos para separar as células e eliminar cuidadosamente o sobrenadante que contém o meio de congelação residual.
7. Ressuspender suavemente o pellet de células em 10 ml de meio de cultura fresco. No caso de células aderentes, dividir a suspensão entre dois frascos de cultura T25; no caso de culturas em suspensão, transferir todo o meio para um frasco T25 para promover uma interação e um crescimento eficazes das células.
8. Cumprir os protocolos de subcultura estabelecidos para o crescimento e manutenção contínuos da linha celular, garantindo resultados experimentais fiáveis.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , atmosfera humidificada.

Flask Coating

Para uma fixação e viabilidade óptimas após a descongelação, recomendamos a utilização de **frascos ou placas revestidos com colagénio**.

Freezing Procedure

As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente -78°C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

Células FS-C3H | 400418

Shipping Conditions

As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente -78 °C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

Storage Conditions

Para conservação a longo prazo, colocar os frascos em azoto líquido em fase de vapor a uma temperatura entre -150 e -196 °C. O armazenamento a -80 °C é aceitável apenas como um curto passo intermédio antes da transferência para azoto líquido.

Controlo de qualidade / Perfil genético / HLA

Sterility

A contaminação por micoplasma é excluída utilizando ensaios baseados em PCR e métodos de deteção de micoplasma baseados em luminescência.

Para garantir que não há contaminação bacteriana, fúngica ou de leveduras, as culturas de células são sujeitas a inspecções visuais diárias.