

**Bunky FS-C3H | 400418****Všeobecné informácie****Description**

Bunková línia FS-C3H, odvodená od kmeňa myši C3H/HeJ, zohráva kľúčovú úlohu pri štúdiu reakcií hostiteľa na endotoxíny, najmä v kontexte výskumu rakoviny. Tento kmeň sa vyznačuje odolnosťou voči endotoxínu v dôsledku špecifickej necitlivosti na lipopolysacharid (LPS), hlavnú zložku bakteriálneho endotoxínu. Vďaka tejto vlastnosti sa FS-C3H stal neoceniteľným modelom na rozbor biochemických a genetických dráh zapojených do regulácie imunitnej odpovede. Výskumníci vo veľkej miere využívali túto bunkovú líniu na skúmanie dynamiky B lymfocytov a makrofágov so zameraním na ich jedinečnú nereaktivitu na LPS, ktorá je v kontraste s typickými reakciami imunitných buniek na takéto podnety.

Nereagovanie buniek FS-C3H na LPS sa pripisuje absencii alebo zmene kľúčového receptora zodpovedného za prenos signálu LPS. Štúdie ukázali, že napriek nereaktivite na LPS sa tieto bunky môžu aktivovať alternatívnymi cestami, ako sú mechanizmy signalizácie proteínkinázy C (PKC) a tyrozínkinázy, podobné tým, ktoré sa aktivujú v bunkách reagujúcich na LPS. Interakcia a regulačné úlohy týchto kináz v signálnych dráhach poukazujú na komplexné vnútrobunkové mechanizmy, čo naznačuje, že PKC a tyrozínkinázové dráhy by mohli kompenzovať defektnú signalizáciu LPS. Toto pozorovanie otvára možnosti na skúmanie toho, ako fosforylácia modulovaná tyrozínkinázou ovplyvňuje celkové bunkové reakcie u týchto myší.

Pokračovanie výskumu buniek FS-C3H je rozhodujúce pre pochopenie molekulárneho základu ich hyporesponzivity na LPS, ktorá potenciálne súvisí s genetickým defektom génu *Lpsn*. Skúmaním fosforylačných profilov týchto buniek v porovnaní s bunkami reagujúcimi na LPS sa vedci snažia odhaliť špecifické molekulárne defekty, ktoré vedú k zmenenej aktivácii génov a proliferatívnej odpovedi. Izolácia a charakterizácia génového produktu zodpovedného za interakciu s LPS by mohla poskytnúť hlbší pohľad na dysfunkcie imunitného systému a pripraviť pôdu pre nové terapeutické prístupy pri liečbe súvisiacich imunitných a zápalových porúch.

**Organism** Myš**Tissue** Koža**Disease** Fibrosarkóm**Charakteristika****Breed/Subspecies** C3H**Growth properties** Adherent**Regulačné údaje****Citation** FS-C3H (katalógové číslo Cytion 400418)**Biosafety level** 1

**Bunky FS-C3H | 400418****NCBI\_TaxID** 10090**CellosaurusAccession** CVCL\_5755**Biomolekulárne údaje****Spracovanie****Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/l glukózy, w: 4 mM L-glutamínu, w: 3,7 g/l NaHCO<sub>3</sub>, w: 1,0 mM pyruvátu sodného (číslo výrobu Cytion 820300a)**Supplements** Doplňte médium o 10 % FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Odstráňte staré médium z adherovaných buniek a premyte ich PBS, ktorý neobsahuje vápnik a horčík. Pre banky T25 použite 3 - 5 ml PBS a pre banky T75 použite 5 - 10 ml. Potom bunky úplne pokryte Accutase, pričom použite 1 - 2 ml pre banky T25 a 2,5 ml pre banky T75. Nechajte bunky inkubovať pri izbovej teplote 8-10 minút, aby sa oddelili. Po inkubácii jemne premiešajte bunky s 10 ml média, aby boli znovu suspendované, a potom ich 3 minúty odstredujte pri 300xg. Supernatant zlikvidujte, bunky znovu rozmiešajte v čerstvom médiu a preneste ich do nových fliaš, ktoré už obsahujú čerstvé médium.**Seeding density**  $2 \times 10^4$  buniek/cm<sup>2</sup>**Fluid renewal** 2 až 3-krát týždenne**Freeze medium** Ako kryokonzervačné médium používame kompletne rastové médium (vrátane FBS) + 10 % DMSO na zabezpečenie primeranej životaschopnosti po rozmrazení alebo CM-1 (katalógové číslo 800100 spoločnosti Cytion), ktoré obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory na zlepšenie regenerácie a zníženie stresu spôsobeného kryom.

## Bunky FS-C3H | 400418

### Thawing and Culturing Cells

1. Overte si, že injekčná liekovka zostane pri doručení hlboko zmrazená, pretože bunky sa prepravujú na suchom ľade, aby sa počas prepravy udržala optimálna teplota.
2. Po prijatí buď okamžite uskladnite kryovialku pri teplote nižšej ako  $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ , aby ste zabezpečili zachovanie bunkovej integrity, alebo prejdite na krok 3, ak je potrebná okamžitá kultivácia.
3. V prípade okamžitej kultivácie injekčnú liekovku rýchlo rozmrazte ponorením do vodného kúpeľa s teplotou  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$  s čistou vodou a antimikrobiálnym prostriedkom, pričom ju jemne miešajte 40 - 60 sekúnd, kým nezostane malý ľadový chumáč.
4. Všetky ďalšie kroky vykonajte v sterilných podmienkach v prietokovom digestore a pred otvorením kryovialku dezinfikujte 70 % etanolom.
5. Opatrne otvorte dezinfikovanú fľaštičku a preneste bunkovú suspenziu do 15 ml centrifugačnej skúmavky obsahujúcej 8 ml kultivačného média s izbovou teplotou a jemne premiešajte.
6. Zmes odstreďujte pri  $300 \times g$  počas 3 minút, aby sa bunky oddelili, a opatrne zlikvidujte supernatant obsahujúci zvyšky zmrazovacieho média.
7. Pelet buniek jemne resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačného média. V prípade adherentných buniek rozdeľte suspenziu medzi dve kultivačné banky T25; v prípade suspenzných kultúr preneste všetko médium do jednej banky T25, aby ste podporili účinnú interakciu a rast buniek.
8. Dodržiavajte zavedené subkultivačné protokoly na nepretržitý rast a udržiavanie bunkovej línie, čím sa zabezpečia spoľahlivé výsledky experimentov.

### Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$ , 5 %  $\text{CO}_2$ , zvlhčená atmosféra.

### Flask Coating

Na dosiahnutie optimálneho uchytenia a životaschopnosti po rozmrazení odporúčame používať **banky alebo platne s kolagénom**.

### Freezing Procedure

Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$  počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

## Bunky FS-C3H | 400418

### Shipping Conditions

Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne -78 °C počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

### Storage Conditions

Na dlhodobé uchovávanie umiestnite injekčné liekovky do kvapalnej fázy dusíka v pare pri teplote približne -150 až -196 °C. Skladovanie pri teplote -80 °C je prijateľné len ako krátky prechodný krok pred presunom do tekutého dusíka.

## Kontrola kvality / Genetický profil / HLA

### Sterility

Kontaminácia mykoplazmami sa vylučuje pomocou testov založených na PCR a metód detekcie mykoplazmiem založených na luminiscencii.

Aby sa zabezpečilo, že nedošlo ku kontaminácii baktériami, hubami alebo kvasinkami, bunkové kultúry sa denne vizuálne kontrolujú.