

Celice FS-C3H | 400418

Splošne informacije

Description

Celična linija FS-C3H, pridobljena iz seva miši C3H/HeJ, ima ključno vlogo pri preučevanju odzivov gostitelja na endotoksine, zlasti v okviru raziskav raka. Ta sev se odlikuje po odpornosti na endotoksin zaradi specifične neobčutljivosti na lipopolisaharid (LPS), ki je glavna sestavina bakterijskega endotoksina. Zaradi te lastnosti je FS-C3H postal neprecenljiv model za raziskovanje biokemičnih in genetskih poti, ki so vključene v uravnavanje imunskega odziva. Raziskovalci so to celično linijo pogosto uporabljali za preučevanje dinamike limfocitov B in makrofagov, pri čemer so se osredotočili na njihovo edinstveno neodzivnost na LPS, ki je v nasprotju z značilnimi reakcijami imunskih celic na takšne dražljaje.

Neodzivnost celic FS-C3H na LPS pripisujejo odsotnosti ali spremembi ključnega receptorja, ki je odgovoren za prenos signala LPS. Študije so pokazale, da se kljub neodzivnosti na LPS te celice lahko aktivirajo po alternativnih poteh, kot so signalni mehanizmi protein kinaze C (PKC) in tirozin kinaze, podobni tistim, ki se aktivirajo v celicah, odzivnih na LPS. Interakcija in regulativne vloge teh kinaz v signalnih poteh poudarjajo zapletene znotrajcelične mehanizme, kar nakazuje, da bi lahko poti PKC in tirozin kinaze nadomestile pomanjkljivo signalizacijo LPS. To opažanje odpira možnosti za raziskovanje, kako fosforilacija, modulirana s tirozin kinazami, vpliva na splošne celične odzive pri teh miših.

Nadaljnje raziskave na celicah FS-C3H so ključnega pomena za razumevanje molekularne osnove njihove neodzivnosti na LPS, ki je morda povezana z genetsko okvaro gena *Lpsn*. Z raziskovanjem profilov fosforilacije teh celic v primerjavi s celicami, ki se odzivajo na LPS, želijo znanstveniki razkriti posebne molekularne napake, ki vodijo do spremenjene aktivacije genov in proliferacijskih odzivov. Izolacija in karakterizacija genskega produkta, odgovornega za interakcijo z LPS, bi lahko zagotovila globlji vpogled v motnje v delovanju imunskega sistema in utrla pot novim terapevtskim pristopom pri zdravljenju povezanih imunskih in vnetnih motenj.

Organism Miška

Tissue Koža

Disease Fibrosarkom

Značilnosti

Breed/Subspecies C3H

Growth properties Pripadajoče

Regulativni podatki

Citation FS-C3H (Cytionova kataložna številka 400418)

Biosafety level 1

Celice FS-C3H | 400418

NCBI_TaxID 10090

CellosaurusAccession CVCL_5755

Biomolekularni podatki**Ravnanje s spletno stranjo****Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/L glukoze, w: 4 mM L-glutamina, w: 3,7 g/L NaHCO₃, w: 1,0 mM natrijevega piruvata (številka izdelka Cytion 820300a)**Supplements** Gojišče dopolnite z 10 % FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Odstranite staro gojišče z adherentnih celic in jih sperite s PBS, ki ne vsebuje kalcija in magnezija. Za bučke T25 uporabite 3-5 ml PBS, za bučke T75 pa 5-10 ml. Nato celice popolnoma prekrijte z Accutase, pri čemer uporabite 1-2 ml za bučke T25 in 2,5 ml za bučke T75. Celice pustite inkubirati pri sobni temperaturi 8-10 minut, da se ločijo. Po inkubaciji celice nežno premešajte z 10 ml gojišča, da se ponovno suspendirajo, nato jih 3 minute centrifugirajte pri 300xg. Zavržite supernatant, ponovno suspendirajte celice v svežem gojišču in jih prenesite v nove bučke, ki že vsebujejo sveže gojišče.**Seeding density** 2×10^4 celic/cm²**Fluid renewal** 2 do 3-krat na teden**Freeze medium** Kot gojišče za kriokonzervacijo uporabljamo popolno rastno gojišče (vključno s FBS) + 10 % DMSO za ustrezno vitalnost po odmrznitvi ali CM-1 (kataloška številka 800100 podjetja Cytion), ki vključuje optimizirane osmoprotektante in presnovne stabilizatorje za izboljšanje okrevanja in zmanjšanje stresa, povzročene s kriom.

Celice FS-C3H | 400418

Thawing and Culturing Cells

1. Prepričajte se, da je viala ob dostavi globoko zamrznjena, saj se celice pošiljajo na suhem ledu, da se med prevozom ohranijo optimalne temperature.
2. Po prejemu krioviala takoj shranite pri temperaturi pod $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, da zagotovite ohranitev celične celovitosti, ali pa nadaljujte s korakom 3, če je potrebno takojšnje gojenje.
3. Za takojšnje gojenje vialo hitro odtalite tako, da jo potopite v vodno kopel s čisto vodo in protimikrobnim sredstvom pri $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ ter 40-60 sekund nežno mešate, dokler ne ostane majhen ledeni kepica.
4. Vse nadaljnje korake izvajajte v sterilnih pogojih v pretočni nape, pred odprtjem pa kriovial razkužite s 70 % etanolom.
5. Previdno odprite razkuženo vialo in celično suspenzijo prenesite v 15-mililitrsko centrifugirno epruveto, ki vsebuje 8 ml gojišča sobne temperature, ter nežno premešajte.
6. Mešanico centrifugirajte pri $300 \times g$ 3 minute, da ločite celice, in previdno zavržite supernatant, ki vsebuje ostanke zamrzovalnega gojišča.
7. Pelet celic nežno ponovno suspendirajte v 10 ml svežega gojišča. Pri adherentnih celicah suspenzijo razdelite med dve bučki T25; pri suspenzijskih kulturah prenesite vse gojišče v eno bučko T25, da spodbudite učinkovito interakcijo in rast celic.
8. Upoštevajte uveljavljene protokole subkultur za nadaljnjo rast in vzdrževanje celične linije ter tako zagotovite zanesljive rezultate poskusov.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5 % CO_2 , vlažno ozračje.

Flask Coating

Za optimalno pritrnitev in sposobnost preživetja po odmrznitvi priporočamo uporabo s **kolagenom prevlečenih bučk ali plošč**.

Freezing Procedure

Kriokonzervirane celične linije se pošiljajo na suhem ledu v potrjeni, izolirani embalaži z zadostno količino hladilnega sredstva, da se med prevozom vzdržuje približno $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Ob prejemu takoj preglejte embalažo in vialo nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.

Celice FS-C3H | 400418

Shipping Conditions

Kriokonzervirane celične linije se pošiljajo na suhem ledu v potrjeni, izolirani embalaži z zadostno količino hladilnega sredstva, da se med prevozom vzdržuje približno -78°C . Ob prejemu takoj preglejte embalažo in vialo nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.

Storage Conditions

Za dolgotrajno shranjevanje vialo postavite v tekoči dušik v parni fazi pri približno -150 do -196°C . Shranjevanje pri -80°C je sprejemljivo le kot kratek vmesni korak pred prenosom v tekoči dušik.

Nadzor kakovosti / Genetski profil / HLA

Sterility

Kontaminacija z mikoplazmo se izključuje z uporabo testov na podlagi PCR in metod za odkrivanje mikoplazme na podlagi luminiscence.

Da se zagotovi, da ni kontaminacije z bakterijami, glivami ali kvasovkami, se celične kulture dnevno vizualno pregledujejo.