HMC3 rakud

300102

Professor Tardieu töörühm töötas 1995. aastal välja inimese mikrogliarakkude klooni 3 (HMC3) rakuliini, milleks kasutas SV40-lt sõltuvat mikrogliarakkude immortaliseerimist inimese seljaaju ja kortikaalkudedest, mis saadi 8-12 nädala vanustest embrüotest. Neid esmaseid rakke, mida iseloomustab aeglane jagunemine ja keeruline morfoloogia, kasvatati esialgu 10-15 päeva enne immortaliseerimist. HMC3 rakud säilitasid mitmeid primaarse mikroglia põhijooni, nagu müeloidsete markerite nagu CD68, CD11b ja CD14 mitmekesine ekspressioon, kuigi ekspressiooni tase varieerus märkimisväärselt sõltuvalt primaarse antikeha valikust, eriti CD68 puhul.
Pärast immortaliseerimist näitasid HMC3 rakud suurenenud proliferatsioonikiirust, mille kahekordistumisaeg jäi vahemikku 24-48 tundi, säilitades samal ajal paljud nende primaarsete vastavate rakkude fenotüübi ja morfoloogilised omadused. Võrreldes primaarsete rakkudega oli suurem CD68 EBM/11-positiivsete rakkude osakaal ja vähenenud fagotsüütiline aktiivsus. Antigeeni ekspressiooni stabiilsus kinnitati 35 läbimise jooksul, kusjuures rakud jäid positiivseks NSE, CD68 ja CD11b suhtes, kuid negatiivseks CD14, MHCII ja CD4 suhtes algtingimustes. Interferoon-γ-ga (IFNγ) kokkupuude tõstis siiski MHCII ekspressiooni, mis vastas rohkem primaarkultuuri reaktsioonidele samale ravile.
Funktsionaalselt erines HMC3 liin teiste kloonidega võrreldes suurema interleukiin-6 (IL-6) produktsiooni poolest baastingimustes. Sellest hoolimata on otsene võrdlus primaarsete mikrogliarakkude tsütokiinide tootmisega metoodiliste erinevuste tõttu keeruline. Vastus lipopolüsahhariidi (LPS) stimulatsioonile tundus neil immortaliseeritud liinidel võrreldes primaarkultuuridega vähenenud. Kooskõlas primaarsete mikrogliade omadustega ei tootnud HMC3 ja teised kloonitud liinid kasvaja nekroosifaktor-alfa (TNFα) ei spontaanselt ega pärast põletikuvastast stimulatsiooni, mis tõstab esile inimese embrüonaalse mikroglia spetsiifilist omadust.

ÜLDINE TEAVE

Kirjeldus

Professor Tardieu töörühm töötas 1995. aastal välja inimese mikrogliarakkude klooni 3 (HMC3) rakuliini, milleks kasutas SV40-lt sõltuvat mikrogliarakkude immortaliseerimist inimese seljaaju ja kortikaalkudedest, mis saadi 8-12 nädala vanustest embrüotest. Neid esmaseid rakke, mida iseloomustab aeglane jagunemine ja keeruline morfoloogia, kasvatati esialgu 10-15 päeva enne immortaliseerimist. HMC3 rakud säilitasid mitmeid primaarse mikroglia põhijooni, nagu müeloidsete markerite nagu CD68, CD11b ja CD14 mitmekesine ekspressioon, kuigi ekspressiooni tase varieerus märkimisväärselt sõltuvalt primaarse antikeha valikust, eriti CD68 puhul.
Pärast immortaliseerimist näitasid HMC3 rakud suurenenud proliferatsioonikiirust, mille kahekordistumisaeg jäi vahemikku 24-48 tundi, säilitades samal ajal paljud nende primaarsete vastavate rakkude fenotüübi ja morfoloogilised omadused. Võrreldes primaarsete rakkudega oli suurem CD68 EBM/11-positiivsete rakkude osakaal ja vähenenud fagotsüütiline aktiivsus. Antigeeni ekspressiooni stabiilsus kinnitati 35 läbimise jooksul, kusjuures rakud jäid positiivseks NSE, CD68 ja CD11b suhtes, kuid negatiivseks CD14, MHCII ja CD4 suhtes algtingimustes. Interferoon-γ-ga (IFNγ) kokkupuude tõstis siiski MHCII ekspressiooni, mis vastas rohkem primaarkultuuri reaktsioonidele samale ravile.
Funktsionaalselt erines HMC3 liin teiste kloonidega võrreldes suurema interleukiin-6 (IL-6) produktsiooni poolest baastingimustes. Sellest hoolimata on otsene võrdlus primaarsete mikrogliarakkude tsütokiinide tootmisega metoodiliste erinevuste tõttu keeruline. Vastus lipopolüsahhariidi (LPS) stimulatsioonile tundus neil immortaliseeritud liinidel võrreldes primaarkultuuridega vähenenud. Kooskõlas primaarsete mikrogliade omadustega ei tootnud HMC3 ja teised kloonitud liinid kasvaja nekroosifaktor-alfa (TNFα) ei spontaanselt ega pärast põletikuvastast stimulatsiooni, mis tõstab esile inimese embrüonaalse mikroglia spetsiifilist omadust.

Kude	Loote aju

Rakendused

3D rakukultuur, neuroteadus, neuroinflatsioon

Sünonüümid

- Human Microglia Clone 3
- CHME-3
- CHME3

KLASSIFIKATSIOON

Organism	Inimene
Sugu	Määratlemata

Cytion GmbH
Nikola-Tesla-Str. 3
69124 Heidelberg
Tel: +49 (0)6221 405780
info@cytion.com
cytion.com

Registered office Heidelberg
VAT ID: DE283292917
Local court Mannheim - HRB 714394
CEO / Geschäftsführer: Jonathan Steubing

Banking information
Sparkasse Heidelberg
IBAN: DE35 6725 0020 0009 2076 86
BIC: SOLADES1HDB

Kasvuvõime	Järgija
GMO-staatus	GMO-S1

GMO-staatuse üksikasjad

GMO-S1: This human fetal brain microglia cell line (HMC3) contains an SV40 T-Antigen construct introduced by transfection, supporting immortalization. The insert is stably present in microglia-derived cells. This classification applies only within Germany and may differ elsewhere.

Bioloogilise ohutuse tase	1

OMADUSED

Morfoloogia	Makrofaagid
Rakutüüp	Mikrogliarakk
Kahekordistumisaeg	24 ja 48 tundi

TUNNUSED

Viide

HMC3 (Cytioni kataloginumber 300102)

NCBI maksukood	9606
Cellosaurus	CVCL_II76

AVALDUMINE JA VASTUVÕTLIKKUS

Viirused

SV40 geneetiline materjal integreerub stabiilselt raku genoomi. Täielike viiruseosakeste aktiivset tootmist või vabanemist ei toimu, mis vähendab võimalikke bioloogilise ohutuse probleeme.

KÄSITLEMINE JA KASVATAMINE

Kasvatuskeskkond

DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/L glükoosi, w: 2,5 mM L-glutamiini, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM naatriumpüruvaati, w: 1,2 g/L NaHCO3 (Cytioni artikli number 820400a)

Inkubatsiooni keskkond	37°C, 5%CO2, niisutatud atmosfäär.

Toidulisandid

Täiendada söötme 10% FBS-ga

Dissotsiatsioonireaktiiv	Accutase

Kultuuri edasikasvatamine

Eemaldage kleepunud rakkudelt vana söötme ja peske neid PBS-ga, milles puudub kaltsium ja magneesium. T25 kolbide puhul kasutage 3-5 ml PBS-i ja T75 kolbide puhul 5-10 ml. Seejärel katke rakud täielikult Accutase'iga, kasutades 1-2 ml T25 kolbide puhul ja 2,5 ml T75 kolbide puhul. Laske rakkudel inkubeerida 8-10 minutit toatemperatuuril, et need eralduksid. Pärast inkubeerimist segage rakud ettevaatlikult 10 ml söötmega, et neid resuspenseerida, seejärel tsentrifuugige 3 minutit 300xg juures. Visake supernatant ära, suspenseerige rakud uuesti värskes keskkonnas ja viige need uutesse kolvidesse, mis sisaldavad juba värsket keskkonda.

Cytion GmbH
Nikola-Tesla-Str. 3
69124 Heidelberg
Tel: +49 (0)6221 405780
info@cytion.com
cytion.com

Registered office Heidelberg
VAT ID: DE283292917
Local court Mannheim - HRB 714394
CEO / Geschäftsführer: Jonathan Steubing

Banking information
Sparkasse Heidelberg
IBAN: DE35 6725 0020 0009 2076 86
BIC: SOLADES1HDB

Sulatamine ja kasvatamine

Confirm that the vial remains deeply frozen upon delivery, as cells are shipped on dry ice to maintain optimal temperatures during transit.
Upon receipt, either store the cryovial immediately at temperatures below -150°C to ensure the preservation of cellular integrity, or proceed to step 3 if immediate culturing is required.
For immediate culturing, swiftly thaw the vial by immersing it in a 37°C water bath with clean water and an antimicrobial agent, agitating gently for 40-60 seconds until a small ice clump remains.
Perform all subsequent steps under sterile conditions in a flow hood, disinfecting the cryovial with 70% ethanol before opening.
Carefully open the disinfected vial and transfer the cell suspension into a 15 ml centrifuge tube containing 8 ml of room-temperature culture medium, mixing gently.
Centrifuge the mixture at 300 x g for 3 minutes to separate the cells and carefully discard the supernatant containing residual freezing medium.
Gently resuspend the cell pellet in 10 ml of fresh culture medium. For adherent cells, divide the suspension between two T25 culture flasks; for suspension cultures, transfer all the medium into one T25 flask to promote effective cell interaction and growth.
Adhere to established subculture protocols for continued growth and maintenance of the cell line, ensuring reliable experimental outcomes.

KVALITEEDIKONTROLL JA KRÜOKONSERVEERIMINE

Viljatus

Mükoplasmakontaminatsioon on välistatud nii PCR-põhiste analüüside kui ka luminestsentsil põhinevate mükoplasma tuvastamise meetodite abil.
Bakteriaalse, seene- või pärmsaaste puudumise tagamiseks kontrollitakse rakukultuure iga päev visuaalselt.

Külmutuskeskkond	Krüosäilitusvedelikusena kasutame täielikku kasvukeskkonda (sh FBS) + 10% DMSO, et tagada piisav elujõulisus pärast sulatamist, või CM-1 (Cytioni katalooginumber 800100), mis sisaldab optimeeritud osmoprotektante ja metaboolseid stabilisaatoreid, et parandada taastumist ja vähendada krüostressi.

Säilitamistingimused

Pikaajaliseks säilitamiseks asetage viaalid aurufaasis vedela lämmastikuga umbes -150 kuni -196 °C juures. Säilitamine temperatuuril -80 °C on vastuvõetav ainult lühikese vaheetapina enne vedela lämmastikuga üleviimist.

Tarne- ja kohaletoimetamistingimused

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu -78 °C. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige viaalid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

ANNETAJA

Doonori vanus	Loote

ÕIGUSLIKUD JA OHUTUSALASED KÜSIMUSED

Ohutusnõuded

Kui plaanitakse krüoviaalide säilitamist vedelas lämmastikus tulevase sulatamise eesmärgil, on kohustuslik järgida rangeid ohutusmeetmeid. Asjakohased kaitsekindad ja -riietus on hädavajalikud ning külmutatud proovide vedela lämmastiku mahutisse või mahutist väljaviimisel tuleb kasutada näomaski või kaitseprille. See on vajalik selleks, et vähendada vigastuste ohtu, mis tuleneb võimalikest krüoviaalide plahvatustest eemaldamisel, mille tagajärjel võivad välja paiskuda teravad killud.

Garantii

Cytion seisab oma toodete kvaliteedi ja elujõulisuse eest.
Me garanteerime, et meie rakud on elujõulised kasvatamise alguses 60 päeva jooksul pärast meie rajatistest saatmist.
Tagame, et kõik materjalid vastavad analüüsisertifikaadis ja/või tootelehel kirjeldatud spetsifikatsioonidele
Täielikke üksikasju leiate meie <a href="""/Who-we-are/Warranty/"" hreflang="""x-default"">Tagatise avaldusest

Vajalik on materjalide üleandmise leping	Yes

Cytion GmbH
Nikola-Tesla-Str. 3
69124 Heidelberg
Tel: +49 (0)6221 405780
info@cytion.com
cytion.com

Registered office Heidelberg
VAT ID: DE283292917
Local court Mannheim - HRB 714394
CEO / Geschäftsführer: Jonathan Steubing

Banking information
Sparkasse Heidelberg
IBAN: DE35 6725 0020 0009 2076 86
BIC: SOLADES1HDB