HMC3-solut

300102

Professori Tardieun työryhmä kehitti vuonna 1995 Human Microglial Clone 3 (HMC3) -solulinjan SV40-riippuvaisesti kuolemattomaksi tekemällä mikrogliasoluja ihmisen selkäydin- ja aivokuoren kudoksista, jotka oli saatu 8-12 viikon ikäisistä alkioista. Näitä primaarisoluja, joille on ominaista hidas jakautuminen ja monimutkainen morfologia, viljeltiin aluksi 10-15 päivää ennen kuolemattomaksi tekemistä. HMC3-solut säilyttivät useita primaaristen mikrogliasolujen keskeisiä piirteitä, kuten myeloidisten merkkiaineiden, kuten CD68, CD11b ja CD14, monipuolisen ilmentymisen, vaikka ilmentymistasot vaihtelivat huomattavasti primaarisen vasta-aineen valinnasta riippuen, erityisesti CD68:n osalta.
Immortalisoinnin jälkeen HMC3-soluilla oli lisääntynyt proliferaatiovauhti, ja niiden kaksinkertaistumisajat olivat 24-48 tuntia, mutta ne säilyttivät monia primaaristen solujensa fenotyyppisiä ja morfologisia ominaisuuksia. Erityisesti CD68 EBM/11 -positiivisten solujen osuus oli suurempi ja fagosyyttinen aktiivisuus väheni primaarisoluihin verrattuna. Antigeeniekspression vakaus vahvistettiin 35 passagea myöten, ja solut pysyivät positiivisina NSE:n, CD68:n ja CD11b:n suhteen, mutta negatiivisina CD14:n, MHCII:n ja CD4:n suhteen perusolosuhteissa. Interferoni-γ:lle (IFNγ) altistuminen lisäsi kuitenkin MHCII:n ilmentymistä, mikä vastasi paremmin primaariviljelmien vasteita samalle hoidolle. Toiminnallisesti HMC3-linja erottautui muista klooneista tuottamalla enemmän interleukiini-6:ta (IL-6) perusolosuhteissa. Tästä huolimatta suora vertailu primaaristen mikrogliasolujen sytokiinituotantoon on edelleen haastavaa menetelmien erojen vuoksi. Vaste lipopolysakkaridistimulaatioon (LPS) näissä kuolemattomiksi muuttuneissa linjoissa näytti olevan heikompi kuin primaariviljelmissä. Ensisijaisten mikroglialien ominaisuuksien mukaisesti HMC3- ja muut kloonatut linjat eivät tuottaneet tuumorinekroositekijä-alfaa (TNFα) spontaanisti tai pro-inflammatorisen stimulaation jälkeen, mikä korostaa ihmisen alkion mikroglioiden erityispiirrettä.

YLEISTÄ TIETOA

Kuvaus

Professori Tardieun työryhmä kehitti vuonna 1995 Human Microglial Clone 3 (HMC3) -solulinjan SV40-riippuvaisesti kuolemattomaksi tekemällä mikrogliasoluja ihmisen selkäydin- ja aivokuoren kudoksista, jotka oli saatu 8-12 viikon ikäisistä alkioista. Näitä primaarisoluja, joille on ominaista hidas jakautuminen ja monimutkainen morfologia, viljeltiin aluksi 10-15 päivää ennen kuolemattomaksi tekemistä. HMC3-solut säilyttivät useita primaaristen mikrogliasolujen keskeisiä piirteitä, kuten myeloidisten merkkiaineiden, kuten CD68, CD11b ja CD14, monipuolisen ilmentymisen, vaikka ilmentymistasot vaihtelivat huomattavasti primaarisen vasta-aineen valinnasta riippuen, erityisesti CD68:n osalta.
Immortalisoinnin jälkeen HMC3-soluilla oli lisääntynyt proliferaatiovauhti, ja niiden kaksinkertaistumisajat olivat 24-48 tuntia, mutta ne säilyttivät monia primaaristen solujensa fenotyyppisiä ja morfologisia ominaisuuksia. Erityisesti CD68 EBM/11 -positiivisten solujen osuus oli suurempi ja fagosyyttinen aktiivisuus väheni primaarisoluihin verrattuna. Antigeeniekspression vakaus vahvistettiin 35 passagea myöten, ja solut pysyivät positiivisina NSE:n, CD68:n ja CD11b:n suhteen, mutta negatiivisina CD14:n, MHCII:n ja CD4:n suhteen perusolosuhteissa. Interferoni-γ:lle (IFNγ) altistuminen lisäsi kuitenkin MHCII:n ilmentymistä, mikä vastasi paremmin primaariviljelmien vasteita samalle hoidolle. Toiminnallisesti HMC3-linja erottautui muista klooneista tuottamalla enemmän interleukiini-6:ta (IL-6) perusolosuhteissa. Tästä huolimatta suora vertailu primaaristen mikrogliasolujen sytokiinituotantoon on edelleen haastavaa menetelmien erojen vuoksi. Vaste lipopolysakkaridistimulaatioon (LPS) näissä kuolemattomiksi muuttuneissa linjoissa näytti olevan heikompi kuin primaariviljelmissä. Ensisijaisten mikroglialien ominaisuuksien mukaisesti HMC3- ja muut kloonatut linjat eivät tuottaneet tuumorinekroositekijä-alfaa (TNFα) spontaanisti tai pro-inflammatorisen stimulaation jälkeen, mikä korostaa ihmisen alkion mikroglioiden erityispiirrettä.

Kudos	Sikiön aivot

Sovellukset

3D-soluviljely, neurotiede, neuroinflammaatio, neurotiede

Synonyymit

- Human Microglia Clone 3
- CHME-3
- CHME3

LUOKITTELU

Organismi	Ihminen
Sukupuoli	Määrittelemätön

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

Kasvuominaisuudet	Kiinnittynyt
GMO-status	GMO-S1

GMO-statuksen tiedot

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.

Bioturvallisuustaso	1

OMINAISUUDET

Morfologia	Makrofagit
Solutyyppi	Mikrogliasolu
Kaksinkertaistumisaika	24 ja 48 tuntia

TUNNISTEET

Lähdeviite

HMC3 (Cytionin luettelonumero 300102)

NCBI-verotunnus	9606
Cellosaurus	CVCL_II76

ILMENTYMINEN JA ALTTIUS

Virukset

SV40-geenimateriaali integroituu pysyvästi solun genomiin. Täydellisiä virushiukkasia ei tuoteta tai vapauteta aktiivisesti, mikä vähentää mahdollisia bioturvallisuusongelmia.

KÄSITTELY JA VILJELY

Viljelyalusta

DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/L glukoosia, w: 2,5 mM L-glutamiinia, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM natriumpyruvaattia, w: 1,2 g/L NaHCO3 (Cytionin artikkelinumero 820400a)

Inkubaatioilma	37 °C, 5 %CO2, kostutettu ilmakehä.

Ravintolisät

Täydennetään elatusainetta 10 %:lla FBS:llä

Dissosiaatioreagenssi	Accutase

Soluviljely

Poista vanha väliaine tarttuneista soluista ja pese ne PBS:llä, josta puuttuu kalsiumia ja magnesiumia. Käytä T25-pulloissa 3-5 ml PBS:ää ja T75-pulloissa 5-10 ml. Peitä sitten solut kokonaan Accutase-valmisteella, käyttäen 1-2 ml T25-pulloissa ja 2,5 ml T75-pulloissa. Anna solujen inkuboitua huoneenlämmössä 8-10 minuuttia solujen irtoamiseksi. Inkuboinnin jälkeen solut sekoitetaan varovasti 10 ml:n väliaineella niiden resuspendoimiseksi ja sentrifugoidaan sitten 300xg:n nopeudella 3 minuutin ajan. Hävitä supernatantti, suspendoi solut uudelleen tuoreeseen väliaineeseen ja siirrä ne uusiin pulloihin, jotka sisältävät jo tuoretta väliaineita.

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

Sulatus ja viljely

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.

LAADUNVALVONTA JA KRYOSÄILYTYS

Hedelmättömyys

Mykoplasmakontaminaatio suljetaan pois sekä PCR-pohjaisilla määrityksillä että luminesenssiin perustuvilla mykoplasman osoitusmenetelmillä.
Bakteeri-, sieni- tai hiivakontaminaation välttämiseksi soluviljelmät tarkastetaan päivittäin silmämääräisesti.

Jäädytysaine	Kryosäilytysmediana käytämme täydellistä kasvualustaa (mukaan lukien FBS) + 10 % DMSO:ta riittävän sulatuksen jälkeisen elinkelpoisuuden varmistamiseksi tai CM-1:tä (Cytionin luettelonumero 800100), joka sisältää optimoituja osmoprotectantteja ja metabolisia stabilisaattoreita, jotka parantavat elpymistä ja vähentävät kryosäilytyksen aiheuttamaa stressiä.

Säilytysolosuhteet

Pitkäaikaissäilytystä varten injektiopullot asetetaan höyryfaasissa olevaan nestemäiseen typpeen noin -150 - -196 °C:een. Säilytys -80 °C:ssa on hyväksyttävää vain lyhyenä välivaiheena ennen siirtoa nestemäiseen typpeen.

Toimitusehdot

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäässä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

LAHJOITTAJA

Luovuttajan ikä	Sikiö

OIKEUDELLISET JA TURVALLISUUSASIAT

Turvallisuusohjeet

Kun suunnitellaan kryoputken säilyttämistä nestemäisessä typessä sulatusta varten, on noudatettava tiukkoja turvatoimenpiteitä. Asianmukaiset suojakäsineet ja -vaatteet ovat välttämättömiä, ja kasvonaamarin tai suojalasien käyttö on välttämätöntä siirrettäessä jäädytettyjä näytteitä nestetyppisäiliöön tai siitä pois. Tällä pyritään pienentämään loukkaantumisriskiä, joka aiheutuu kryoputkien mahdollisista räjähdyksistä, jotka voivat aiheuttaa terävien sirpaleiden sinkoutumisen.

Takuu

Me Cytionilla seisomme tuotteidemme laadun ja elinkelpoisuuden takana.
Takaamme, että solumme ovat elinkelpoisia viljelyn alkaessa 60 päivän ajan sen jälkeen, kun ne on lähetetty laitoksestamme.
Vakuutamme, että kaikki materiaalit ovat analyysitodistuksessa ja/tai tuoteselosteessa kuvattujen eritelmien mukaisia
Lisätietoja on <a href=""/Who-we-are/Warranty/"" hreflang=""""x-default"">Takuulausumassa

Aineiden siirtoa koskeva sopimus vaaditaan	Yes