HMC3 ląstelės

300102

1995 m. profesoriaus Tardieu komanda sukūrė žmogaus mikroglijos klono 3 (HMC3) ląstelių liniją, nuo SV40 priklausomai imortalizuodama mikroglijos ląsteles iš žmogaus nugaros smegenų ir žievės audinių, gautų iš 8-12 savaičių amžiaus embrionų. Šios pirminės lėtai besidalijančios ir sudėtingos morfologijos ląstelės prieš imortalizaciją iš pradžių buvo auginamos 10-15 dienų. HMC3 ląstelės išlaikė keletą pagrindinių pirminių mikroglijų požymių, pavyzdžiui, įvairias mieloidinių žymenų, tokių kaip CD68, CD11b ir CD14, raiškas, nors raiškos lygis labai skyrėsi priklausomai nuo pasirinkto pirminio antikūno, ypač CD68.
Po imortalizacijos HMC3 ląstelės pasižymėjo didesniu proliferacijos greičiu, o jų padvigubėjimo trukmė buvo 24-48 valandos, kartu išsaugant daugelį fenotipinių ir morfologinių pirminių ląstelių savybių. Visų pirma, palyginti su pirminėmis ląstelėmis, jose buvo daugiau CD68 EBM/11 teigiamų ląstelių ir sumažėjo fagocitinis aktyvumas. Antigeninės raiškos stabilumas buvo patvirtintas per 35 ciklus, kai ląstelės išliko teigiamos NSE, CD68 ir CD11b, bet neigiamos CD14, MHCII ir CD4, esant pradinėms sąlygoms. Tačiau veikiant interferonu-γ (IFNγ) padidėjo MHCII raiška, o tai labiau atitiko pirminių kultūrų atsaką į tą patį gydymą.
Funkciniu požiūriu HMC3 linija išsiskyrė tuo, kad bazinėmis sąlygomis gamino didesnį interleukino-6 (IL-6) kiekį, palyginti su kitais klonais. Nepaisant to, tiesioginis palyginimas su pirminių mikroglijos ląstelių citokinų gamyba išlieka sudėtingas dėl metodologinių skirtumų. Šių imortalizuotų linijų atsakas į lipopolisacharido (LPS) stimuliaciją, palyginti su pirminėmis kultūromis, pasirodė sumažėjęs. Atsižvelgiant į pirminių mikroglijų savybes, HMC3 ir kitos klonuotos linijos negamino naviko nekrozės faktoriaus alfa (TNFα) nei spontaniškai, nei po prouždegiminės stimuliacijos, o tai rodo specifinį žmogaus embrioninių mikroglijų bruožą.

BENDRA INFORMACIJA

Aprašymas

1995 m. profesoriaus Tardieu komanda sukūrė žmogaus mikroglijos klono 3 (HMC3) ląstelių liniją, nuo SV40 priklausomai imortalizuodama mikroglijos ląsteles iš žmogaus nugaros smegenų ir žievės audinių, gautų iš 8-12 savaičių amžiaus embrionų. Šios pirminės lėtai besidalijančios ir sudėtingos morfologijos ląstelės prieš imortalizaciją iš pradžių buvo auginamos 10-15 dienų. HMC3 ląstelės išlaikė keletą pagrindinių pirminių mikroglijų požymių, pavyzdžiui, įvairias mieloidinių žymenų, tokių kaip CD68, CD11b ir CD14, raiškas, nors raiškos lygis labai skyrėsi priklausomai nuo pasirinkto pirminio antikūno, ypač CD68.
Po imortalizacijos HMC3 ląstelės pasižymėjo didesniu proliferacijos greičiu, o jų padvigubėjimo trukmė buvo 24-48 valandos, kartu išsaugant daugelį fenotipinių ir morfologinių pirminių ląstelių savybių. Visų pirma, palyginti su pirminėmis ląstelėmis, jose buvo daugiau CD68 EBM/11 teigiamų ląstelių ir sumažėjo fagocitinis aktyvumas. Antigeninės raiškos stabilumas buvo patvirtintas per 35 ciklus, kai ląstelės išliko teigiamos NSE, CD68 ir CD11b, bet neigiamos CD14, MHCII ir CD4, esant pradinėms sąlygoms. Tačiau veikiant interferonu-γ (IFNγ) padidėjo MHCII raiška, o tai labiau atitiko pirminių kultūrų atsaką į tą patį gydymą.
Funkciniu požiūriu HMC3 linija išsiskyrė tuo, kad bazinėmis sąlygomis gamino didesnį interleukino-6 (IL-6) kiekį, palyginti su kitais klonais. Nepaisant to, tiesioginis palyginimas su pirminių mikroglijos ląstelių citokinų gamyba išlieka sudėtingas dėl metodologinių skirtumų. Šių imortalizuotų linijų atsakas į lipopolisacharido (LPS) stimuliaciją, palyginti su pirminėmis kultūromis, pasirodė sumažėjęs. Atsižvelgiant į pirminių mikroglijų savybes, HMC3 ir kitos klonuotos linijos negamino naviko nekrozės faktoriaus alfa (TNFα) nei spontaniškai, nei po prouždegiminės stimuliacijos, o tai rodo specifinį žmogaus embrioninių mikroglijų bruožą.

Audinys	Vaisiaus smegenys

Paraiškos

3D ląstelių kultūra, Neuromokslai, Neuroinflamation

Sinonimai

- Human Microglia Clone 3
- CHME-3
- CHME3

KLASIFIKACIJA

Organizmas	Žmogus
Seksas	Nenurodyta
Augimo savybės	Prisijungęs

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

GMO statusas	GMO-S1

Išsami informacija apie GMO statusą

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.

Biologinio saugumo lygis	1

CHARAKTERISTIKOS

Morfologija	Makrofagai
Ląstelių tipas	Mikroglijos ląstelė
Laikas, per kurį skaičius padvigubėja	24 ir 48 valandos

IDENTIFIKATORIAI

Nuoroda

HMC3 (Cytion katalogo numeris 300102)

NCBI mokesčių identifikavimo kodas	9606
Cellosaurus	CVCL_II76

IŠRAIŠKA IR JAUTRUMAS

Virusai

SV40 genetinė medžiaga stabiliai integruojama į ląstelės genomą. Aktyviai negaminamos ir neišskiriamos visos viruso dalelės, o tai sumažina galimas biologinio saugumo problemas.

LAIKYMAS IR AUGINIMAS

Maitinamoji terpė

DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/l gliukozės, w: 2,5 mM L-glutamino, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM natrio piruvato, w: 1,2 g/l NaHCO3 (Cytion gaminio numeris 820400a)

Inkubacijos aplinka	37 °C, 5 %CO2, drėkintoje atmosferoje.

Maisto papildai

Papildykite terpę 10 % FBS

Disociacijos reagentas	Accutase

Subkultūrinis auginimas

Pašalinkite seną terpę nuo prilipusių ląstelių ir nuplaukite jas PBS, kuriame nėra kalcio ir magnio. T25 kolboms naudokite 3-5 ml PBS, o T75 kolboms - 5-10 ml. Tuomet visiškai užpilkite ląsteles "Accutase", naudodami 1-2 ml T25 kolboms ir 2,5 ml T75 kolboms. Leiskite ląstelėms inkubuotis kambario temperatūroje 8-10 minučių, kad jos atsiskirtų. Po inkubacijos atsargiai sumaišykite ląsteles su 10 ml terpės, kad jos vėl suspenduotų, tada 3 minutes centrifuguokite 300xg greičiu. Išmeskite supernatantą, vėl sutirpinkite ląsteles šviežioje terpėje ir perkelkite jas į naujas kolbas, kuriose jau yra šviežia terpė.

Atšildymas ir auginimas

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.

KOKYBĖS KONTROLĖ IR KRIOKONSERVAVIMAS

Sterilumas

Mikoplazmos užterštumas atmetamas taikant PGR pagrįstus tyrimus ir liuminescencinius mikoplazmos aptikimo metodus.
Siekiant užtikrinti, kad nebūtų užteršimo bakterijomis, grybeliais ar mielėmis, ląstelių kultūros kasdien vizualiai tikrinamos.

Šaldymo terpė	Kaip kriokonservavimo terpę naudojame visišką augimo terpę (įskaitant FBS) + 10 % DMSO, kad būtų užtikrintas tinkamas gyvybingumas po atšildymo, arba CM-1 (Cytion katalogo numeris 800100), kurioje yra optimizuotų osmoprotektorių ir medžiagų apykaitos stabilizatorių, kad būtų pagerintas atsigavimas ir sumažintas kriokonservavimo sukeltas stresas.

Laikymo sąlygos

Norėdami ilgai saugoti, įdėkite buteliukus į garų fazės skystą azotą maždaug -150-196 °C temperatūroje. Laikymas -80 °C temperatūroje yra priimtinas tik kaip trumpas tarpinis etapas prieš perkeliant į skystąjį azotą.

Pristatymo sąlygos

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug -78 °C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelkite mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

DONORAS

Donoro amžius	Vaisius

TEISINIAI IR SAUGOS KLAUSIMAI

Saugos priemonės

Planuojant saugoti kriovaistinę skystame azote, kad ateityje ją būtų galima atšildyti, būtina laikytis griežtų saugos priemonių. Būtina mūvėti tinkamas apsaugines pirštines ir drabužius, o perkeliant užšaldytus mėginius į skystojo azoto talpyklą arba iš jos būtina naudoti veido kaukę arba apsauginius akinius. Taip siekiama sumažinti sužeidimų riziką dėl galimo kriokomponentų sprogimo išėmimo metu, kai gali išsiveržti aštrūs fragmentai.

Garantija

" Cytion" garantuoja savo produktų kokybę ir gyvybingumą.
Garantuojame, kad mūsų ląstelės bus gyvybingos kultūrų auginimo pradžioje 60 dienų po išsiuntimo iš mūsų gamyklos.
Užtikriname, kad visos medžiagos atitinka analizės sertifikate ir (arba) gaminio lape aprašytas specifikacijas
Išsamią informaciją rasite mūsų <a href=""/Kas mes esame/garantijos/" hreflang=""x-default"">Garantijos pareiškime

Reikalinga medžiagų perdavimo sutartis	Yes