HMC3 šūnas

300102

Cilvēka mikrogliju klona 3 (HMC3) šūnu līniju 1995. gadā izstrādāja profesora Tardjē komanda, izmantojot SV40 atkarīgu mikrogliju šūnu imortalizāciju no cilvēka muguras smadzeņu un galvas smadzeņu garozas audiem, kas iegūti no 8 līdz 12 nedēļu veciem embrijiem. Šīs primārās šūnas, kurām raksturīga lēna dalīšanās un sarežģīta morfoloģija, pirms imortalizācijas sākotnēji tika kultivētas 10-15 dienas. HMC3 šūnas saglabāja vairākas primārās mikroglijas galvenās pazīmes, piemēram, tādu mieloīdu marķieru kā CD68, CD11b un CD14 daudzveidīgu ekspresiju, lai gan ekspresijas līmeņi ievērojami atšķīrās atkarībā no primārās antivielas izvēles, jo īpaši CD68 gadījumā. Pēc imortalizācijas HMC3 šūnas uzrādīja paaugstinātu proliferācijas ātrumu ar dubultošanās laiku no 24 līdz 48 stundām, vienlaikus saglabājot daudzas fenotipiskās un morfoloģiskās īpašības, kas raksturīgas to primārajām šūnām. Īpaši jāatzīmē lielāks CD68 EBM/11 pozitīvo šūnu īpatsvars un fagocītiskās aktivitātes samazināšanās salīdzinājumā ar primārajām šūnām. Antigēnu ekspresijas stabilitāte tika apstiprināta 35 pasāžu laikā, šūnām saglabājoties pozitīvām attiecībā uz NSE, CD68 un CD11b, bet negatīvām attiecībā uz CD14, MHCII un CD4 bāzes apstākļos. Tomēr interferona-γ (IFNγ) iedarbība palielināja MHCII ekspresiju, kas vairāk atbilda primāro kultūru reakcijām uz to pašu apstrādi.
Funkcionāli HMC3 līnija izcēlās ar augstāku interleikīna-6 (IL-6) līmeni bāzes apstākļos salīdzinājumā ar citiem kloniem. Neraugoties uz to, tiešais salīdzinājums ar primāro mikrogliālo šūnu citokīnu produkciju joprojām ir sarežģīts metodoloģisko atšķirību dēļ. Šo imortalizēto līniju reakcija uz lipopolisaharīda (LPS) stimulāciju izrādījās mazāka salīdzinājumā ar primārajām kultūrām. Atbilstoši primāro mikrogliju īpašībām HMC3 un citas klonētās līnijas nedeva audzēja nekrozes faktoru alfa (TNFα) ne spontāni, ne pēc proiekaisuma stimulācijas, uzsverot cilvēka embrionālo mikrogliju specifisku iezīmi.

VISPĀRĪGA INFORMĀCIJA

Apraksts

Cilvēka mikrogliju klona 3 (HMC3) šūnu līniju 1995. gadā izstrādāja profesora Tardjē komanda, izmantojot SV40 atkarīgu mikrogliju šūnu imortalizāciju no cilvēka muguras smadzeņu un galvas smadzeņu garozas audiem, kas iegūti no 8 līdz 12 nedēļu veciem embrijiem. Šīs primārās šūnas, kurām raksturīga lēna dalīšanās un sarežģīta morfoloģija, pirms imortalizācijas sākotnēji tika kultivētas 10-15 dienas. HMC3 šūnas saglabāja vairākas primārās mikroglijas galvenās pazīmes, piemēram, tādu mieloīdu marķieru kā CD68, CD11b un CD14 daudzveidīgu ekspresiju, lai gan ekspresijas līmeņi ievērojami atšķīrās atkarībā no primārās antivielas izvēles, jo īpaši CD68 gadījumā. Pēc imortalizācijas HMC3 šūnas uzrādīja paaugstinātu proliferācijas ātrumu ar dubultošanās laiku no 24 līdz 48 stundām, vienlaikus saglabājot daudzas fenotipiskās un morfoloģiskās īpašības, kas raksturīgas to primārajām šūnām. Īpaši jāatzīmē lielāks CD68 EBM/11 pozitīvo šūnu īpatsvars un fagocītiskās aktivitātes samazināšanās salīdzinājumā ar primārajām šūnām. Antigēnu ekspresijas stabilitāte tika apstiprināta 35 pasāžu laikā, šūnām saglabājoties pozitīvām attiecībā uz NSE, CD68 un CD11b, bet negatīvām attiecībā uz CD14, MHCII un CD4 bāzes apstākļos. Tomēr interferona-γ (IFNγ) iedarbība palielināja MHCII ekspresiju, kas vairāk atbilda primāro kultūru reakcijām uz to pašu apstrādi.
Funkcionāli HMC3 līnija izcēlās ar augstāku interleikīna-6 (IL-6) līmeni bāzes apstākļos salīdzinājumā ar citiem kloniem. Neraugoties uz to, tiešais salīdzinājums ar primāro mikrogliālo šūnu citokīnu produkciju joprojām ir sarežģīts metodoloģisko atšķirību dēļ. Šo imortalizēto līniju reakcija uz lipopolisaharīda (LPS) stimulāciju izrādījās mazāka salīdzinājumā ar primārajām kultūrām. Atbilstoši primāro mikrogliju īpašībām HMC3 un citas klonētās līnijas nedeva audzēja nekrozes faktoru alfa (TNFα) ne spontāni, ne pēc proiekaisuma stimulācijas, uzsverot cilvēka embrionālo mikrogliju specifisku iezīmi.

Audums	Augļa smadzenes

Pieteikumi

3D šūnu kultūras, neirozinātne, neiroinflamācija

Sinonīmi

- Human Microglia Clone 3
- CHME-3
- CHME3

KLASIFIKĀCIJA

Organisms	Cilvēks
Sekss	Nav norādīts

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

Augšanas īpašības	Atbalstītājs
ĢMO statuss	GMO-S1

Sīkāka informācija par ĢMO statusu

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.

Bioloģiskās drošības līmenis	1

RAKSTURLIELUMI

Morfoloģija	Makrofāgi
Šūnu tips	Mikrogliju šūna
Laiks, kas nepieciešams, lai skaits dubultojās	24 un 48 stundas

IDENTIFIKATORI

Atsauce

HMC3 (Cytion kataloga numurs 300102)

NCBI nodokļu identifikācijas numurs	9606
Cellosaurus	CVCL_II76

PAZĪMES UN UZŅĒMĪBA

Vīrusi

SV40 ģenētiskais materiāls ir stabili integrēts šūnas genomā. Nav aktīvas vīrusa daļiņu ražošanas vai izdalīšanās, kas mazina iespējamās bažas par bioloģisko drošību.

APSTRĀDE UN AUDZĒŠANA

Barotne

DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/l glikozes, w: 2,5 mM L-glutamīna, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM nātrija piruvāta, w: 1,2 g/l NaHCO3 (Cytion izstrādājuma numurs 820400a)

Inkubācijas vide	37°C, 5%CO2, mitrināta atmosfēra.

Papildinājumi

Papildināt barotni ar 10% FBS

Disociācijas reaģents	Accutase

Pārstādīšana

Noņemt veco barotni no pielipušajām šūnām un mazgāt tās ar PBS, kurā nav kalcija un magnija. T25 kolbām izmantojiet 3-5 ml PBS, bet T75 kolbām - 5-10 ml. Pēc tam pilnībā pārklājiet šūnas ar Accutase, izmantojot 1-2 ml T25 kolbām un 2,5 ml T75 kolbām. Ļaujiet šūnām inkubēties istabas temperatūrā 8-10 minūtes, lai tās atdalītos. Pēc inkubācijas uzmanīgi samaisiet šūnas ar 10 ml barotnes, lai tās atkārtoti suspendētu, pēc tam centrifugējiet 3 minūtes ar 300xg. Izmetiet supernatantu, atkārtoti suspendējiet šūnas svaigā barotnē un pārvietojiet tās jaunās kolbās, kurās jau ir svaiga barotne.

Atkausēšana un kultivēšana

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.

KVALITĀTES KONTROLE UN KRIOKONSERVĀCIJA

Sterilitāte

Mikoplazmas piesārņojums tiek izslēgts, izmantojot gan uz PCR balstītus testus, gan uz luminiscenci balstītas mikoplazmas noteikšanas metodes.
Lai pārliecinātos, ka nav baktēriju, sēnīšu vai rauga piesārņojuma, šūnu kultūras katru dienu vizuāli pārbauda.

Saldēšanas barotne	Kā kriokonservēšanas barotni mēs izmantojam pilnvērtīgu augšanas barotni (ieskaitot FBS) + 10 % DMSO, lai nodrošinātu pietiekamu dzīvotspēju pēc atkausēšanas, vai CM-1 (Cytion kataloga numurs 800100), kas ietver optimizētus osmoprotektorus un metaboliskos stabilizatorus, lai uzlabotu atveseļošanos un samazinātu krioinducēto stresu.

Uzglabāšanas nosacījumi

Ilgstošai uzglabāšanai flakonus ievietojiet šķidrā slāpeklī ar tvaika fāzi aptuveni -150 līdz -196 °C temperatūrā. Uzglabāšana -80 °C temperatūrā ir pieļaujama tikai kā īss starpposms pirms pārvietošanas uz šķidro slāpekli.

Piegādes nosacījumi

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidruma daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

ZIEDOTĀJS

Donora vecums	Auglis

JURIDISKIE JAUTĀJUMI UN DROŠĪBA

Drošības pasākumi

Plānojot uzglabāt kriokviālu šķidrā slāpeklī turpmākai atkausēšanai, obligāti jāievēro stingri drošības pasākumi. Ir nepieciešami piemēroti aizsargcimdi un apģērbs, un, pārvietojot sasaldētos paraugus uz šķidrā slāpekļa tvertni vai no tās, ir jālieto sejas maska vai aizsargbrilles. Tas jādara, lai mazinātu traumu risku, ko var radīt iespējamas kriokrioviālu eksplozijas, kas var izraisīt asu fragmentu izmešanu.

Garantija

Uzņēmumā Cytion mēs atbalstām savu produktu kvalitāti un dzīvotspēju.
Mēs garantējam, ka mūsu šūnas būs dzīvotspējīgas kultivēšanas sākumā 60 dienas pēc nosūtīšanas no mūsu ražotnēm.
Mēs nodrošinām, ka visi materiāli atbilst analīzes sertifikātā un/vai produkta lapā aprakstītajām specifikācijām
Lai iegūtu sīkāku informāciju, lūdzu, skatiet mūsu <a href=""/"/Kas mēs esam/garantija/"" hreflang=""x-default"">Garantijas paziņojumu

Nepieciešams materiālu nodošanas līgums	Yes