Komórki HMC3

300102

Linia komórkowa Human Microglial Clone 3 (HMC3) została opracowana w 1995 roku przez zespół profesora Tardieu poprzez zależną od SV40 immortalizację komórek mikrogleju z ludzkiego rdzenia kręgowego i tkanek korowych, uzyskanych z zarodków w wieku od 8 do 12 tygodni. Te pierwotne komórki, charakteryzujące się powolnym podziałem i złożoną morfologią, były początkowo hodowane przez 10-15 dni przed immortalizacją. Komórki HMC3 zachowały kilka kluczowych cech pierwotnych mikrogleju, takich jak zróżnicowana ekspresja markerów szpikowych, takich jak CD68, CD11b i CD14, chociaż poziomy ekspresji różniły się znacznie w zależności od wyboru pierwotnego przeciwciała, szczególnie dla CD68.
Po immortalizacji komórki HMC3 wykazywały zwiększone tempo proliferacji, z czasem podwojenia między 24 a 48 godzin, zachowując jednocześnie wiele cech fenotypowych i morfologicznych swoich pierwotnych odpowiedników. W szczególności, stwierdzono wyższy odsetek komórek CD68 EBM/11-dodatnich i zmniejszenie aktywności fagocytarnej w porównaniu do komórek pierwotnych. Stabilność ekspresji antygenowej została potwierdzona w 35 pasażach, przy czym komórki pozostały dodatnie dla NSE, CD68 i CD11b, ale ujemne dla CD14, MHCII i CD4 w warunkach wyjściowych. Jednak ekspozycja na interferon-γ (IFNγ) zwiększyła ekspresję MHCII, co jest bardziej zbliżone do odpowiedzi hodowli pierwotnej na to samo leczenie.
Funkcjonalnie, linia HMC3 wyróżniała się wytwarzaniem wyższych poziomów interleukiny-6 (IL-6) w warunkach podstawowych w porównaniu do innych klonów. Pomimo tego, bezpośrednie porównanie z produkcją cytokin przez pierwotne komórki mikrogleju pozostaje trudne ze względu na różnice metodologiczne. Odpowiedź na stymulację lipopolisacharydem (LPS) w tych unieśmiertelnionych liniach wydawała się zmniejszona w porównaniu z kulturami pierwotnymi. Zgodnie z pierwotnymi cechami mikrogleju, HMC3 i inne sklonowane linie nie wytwarzały czynnika martwicy nowotworów alfa (TNFα), ani spontanicznie, ani po stymulacji prozapalnej, podkreślając specyficzną cechę ludzkich mikrogleju embrionalnego.

INFORMACJE OGÓLNE

Opis

Linia komórkowa Human Microglial Clone 3 (HMC3) została opracowana w 1995 roku przez zespół profesora Tardieu poprzez zależną od SV40 immortalizację komórek mikrogleju z ludzkiego rdzenia kręgowego i tkanek korowych, uzyskanych z zarodków w wieku od 8 do 12 tygodni. Te pierwotne komórki, charakteryzujące się powolnym podziałem i złożoną morfologią, były początkowo hodowane przez 10-15 dni przed immortalizacją. Komórki HMC3 zachowały kilka kluczowych cech pierwotnych mikrogleju, takich jak zróżnicowana ekspresja markerów szpikowych, takich jak CD68, CD11b i CD14, chociaż poziomy ekspresji różniły się znacznie w zależności od wyboru pierwotnego przeciwciała, szczególnie dla CD68.
Po immortalizacji komórki HMC3 wykazywały zwiększone tempo proliferacji, z czasem podwojenia między 24 a 48 godzin, zachowując jednocześnie wiele cech fenotypowych i morfologicznych swoich pierwotnych odpowiedników. W szczególności, stwierdzono wyższy odsetek komórek CD68 EBM/11-dodatnich i zmniejszenie aktywności fagocytarnej w porównaniu do komórek pierwotnych. Stabilność ekspresji antygenowej została potwierdzona w 35 pasażach, przy czym komórki pozostały dodatnie dla NSE, CD68 i CD11b, ale ujemne dla CD14, MHCII i CD4 w warunkach wyjściowych. Jednak ekspozycja na interferon-γ (IFNγ) zwiększyła ekspresję MHCII, co jest bardziej zbliżone do odpowiedzi hodowli pierwotnej na to samo leczenie.
Funkcjonalnie, linia HMC3 wyróżniała się wytwarzaniem wyższych poziomów interleukiny-6 (IL-6) w warunkach podstawowych w porównaniu do innych klonów. Pomimo tego, bezpośrednie porównanie z produkcją cytokin przez pierwotne komórki mikrogleju pozostaje trudne ze względu na różnice metodologiczne. Odpowiedź na stymulację lipopolisacharydem (LPS) w tych unieśmiertelnionych liniach wydawała się zmniejszona w porównaniu z kulturami pierwotnymi. Zgodnie z pierwotnymi cechami mikrogleju, HMC3 i inne sklonowane linie nie wytwarzały czynnika martwicy nowotworów alfa (TNFα), ani spontanicznie, ani po stymulacji prozapalnej, podkreślając specyficzną cechę ludzkich mikrogleju embrionalnego.

Chusteczka	Mózg płodu

Zastosowania

hodowla komórkowa 3D, neuronauka, neuroinflamacja

Synonimy

- Human Microglia Clone 3
- CHME-3
- CHME3

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

KLASYFIKACJA

Organizm	Człowiek
Seks	Nieokreślone
Właściwości związane ze wzrostem	Zwolennik
Status GMO	GMO-S1

Szczegółowe informacje dotyczące statusu GMO

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.

Poziom bezpieczeństwa biologicznego	1

CECHY CHARAKTERYSTYCZNE

Morfologia	Makrofag
Typ komórki	Komórka mikrogleju
Czas podwojenia	24 i 48 godzin

IDENTYFIKATORY

Źródło

HMC3 (numer katalogowy Cytion 300102)

Numer identyfikacji podatkowej NCBI	9606
Cellosaurus	CVCL_II76

EKSPRESJA I PODATNOŚĆ

Wirusy

Materiał genetyczny SV40 jest stabilnie zintegrowany z genomem komórki. Nie ma aktywnej produkcji ani uwalniania kompletnych cząstek wirusa, co zmniejsza potencjalne obawy związane z bezpieczeństwem biologicznym.

POSTĘPOWANIE I HODOWLA

Pożywka hodowlana

DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/l glukozy, w: 2,5 mM L-glutaminy, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM pirogronianu sodu, w: 1,2 g/l NaHCO3 (numer artykułu Cytion 820400a)

Atmosfera inkubacyjna	37°C, 5%CO2, nawilżona atmosfera.

Suplementy

Uzupełnić podłoże 10% FBS

Odczynnik dysocjacyjny	Accutase

Hodowla komórek w subkulturze

Usuń starą pożywkę z przylegających komórek i przemyj je PBS, który nie zawiera wapnia i magnezu. W przypadku kolb T25 należy użyć 3-5 ml PBS, a w przypadku kolb T75 5-10 ml. Następnie całkowicie pokryj komórki Accutase, używając 1-2 ml dla kolb T25 i 2,5 ml dla kolb T75. Pozwól komórkom inkubować w temperaturze pokojowej przez 8-10 minut, aby je oddzielić. Po inkubacji delikatnie wymieszaj komórki z 10 ml pożywki, aby ponownie je zawiesić, a następnie odwiruj przy 300xg przez 3 minuty. Odrzucić supernatant, ponownie zawiesić komórki w świeżej pożywce i przenieść je do nowych kolb zawierających już świeżą pożywkę.

Rozmrażanie i hodowla

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.

KONTROLA JAKOŚCI I KRIOKONSERWACJA

Bezpłodność

Zanieczyszczenie mykoplazmą jest wykluczane przy użyciu zarówno testów opartych na PCR, jak i metod wykrywania mykoplazmy opartych na luminescencji.
Aby upewnić się, że nie ma zanieczyszczenia bakteriami, grzybami lub drożdżami, hodowle komórkowe są poddawane codziennym kontrolom wizualnym.

Pożywka do zamrażania	Jako pożywki do kriokonserwacji używamy kompletnej pożywki wzrostowej (w tym FBS) + 10% DMSO w celu zapewnienia odpowiedniej żywotności po rozmrożeniu lub CM-1 (numer katalogowy Cytion 800100), która zawiera zoptymalizowane osmoprotektanty i stabilizatory metaboliczne w celu zwiększenia regeneracji i zmniejszenia stresu wywołanego kriokonserwacją.

Warunki przechowywania

W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiolki w ciekłym azocie w fazie lotnej w temperaturze od -150 do -196 °C.
Przechowywanie w temperaturze -80 °C jest dopuszczalne tylko jako krótki etap przejściowy przed przeniesieniem do ciekłego azotu.

Warunki wysyłki

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

DARCZYŃCA

Wiek dawcy	Płód

KWESTIE PRAWNE I BEZPIECZEŃSTWO

Środki bezpieczeństwa

Planując przechowywanie kriofiolek w ciekłym azocie w celu ich późniejszego rozmrożenia, należy bezwzględnie przestrzegać rygorystycznych środków bezpieczeństwa. Niezbędne są odpowiednie rękawice i odzież ochronna, a podczas przenoszenia zamrożonych próbek do lub ze zbiornika z ciekłym azotem wymagane jest stosowanie maski lub okularów ochronnych. Ma to na celu zmniejszenie ryzyka obrażeń spowodowanych potencjalnymi eksplozjami kriowialu podczas wyjmowania, które mogą skutkować wyrzuceniem ostrych fragmentów.

Gwarancja

W Cytion gwarantujemy jakość i żywotność naszych produktów.
Gwarantujemy, że nasze komórki będą żywotne na początku hodowli przez 60 dni po wysyłce z naszych zakładów.
Zapewniamy, że wszystkie materiały są zgodne ze specyfikacjami opisanymi w certyfikacie analizy i/lub karcie produktu
Szczegółowe informacje można znaleźć w naszej <a href=""/Who-we-are/Warranty/"" hreflang=""x-default"">Oświadczeniu gwarancyjnym

Wymagana umowa o transferze materiałów	Yes