Celice HMC3

300102

Celično linijo Human Microglial Clone 3 (HMC3) je leta 1995 razvila ekipa profesorja Tardieuja z imortalizacijo mikroglijskih celic iz človeških tkiv hrbtenjače in skorje, pridobljenih iz zarodkov, starih od 8 do 12 tednov, v odvisnosti od SV40. Te primarne celice, za katere je značilna počasna delitev in kompleksna morfologija, so bile pred imortalizacijo najprej gojene 10-15 dni. Celice HMC3 so ohranile več ključnih značilnosti primarnih mikroglijev, kot je raznoliko izražanje mieloidnih označevalcev, kot so CD68, CD11b in CD14, čeprav so se ravni izražanja zelo razlikovale glede na izbiro primarnega protitelesa, zlasti za CD68.
Po imortalizaciji so celice HMC3 pokazale večjo stopnjo proliferacije, pri čemer se je čas podvojitve gibal med 24 in 48 urami, hkrati pa so ohranile številne fenotipske in morfološke značilnosti svojih primarnih kolegov. V primerjavi s primarnimi celicami je bil delež celic, pozitivnih na CD68 EBM/11, večji, fagocitna aktivnost pa manjša. Stabilnost antigenskega izražanja je bila potrjena v 35 prehodih, pri čemer so celice ostale pozitivne za NSE, CD68 in CD11b, vendar negativne za CD14, MHCII in CD4 v osnovnih pogojih. Vendar je izpostavljenost interferonu-γ (IFNγ) povečala izražanje MHCII, kar se bolj ujema z odzivi primarnih kultur na isto zdravljenje.
Funkcionalno se je linija HMC3 razlikovala po tem, da je v primerjavi z drugimi kloni v osnovnih pogojih proizvajala višje ravni interlevkina-6 (IL-6). Kljub temu je neposredna primerjava s proizvodnjo citokinov v primarnih mikroglijskih celicah zaradi metodoloških razlik še vedno težavna. Odziv na stimulacijo z lipopolisaharidom (LPS) v teh imortaliziranih linijah je bil v primerjavi s primarnimi kulturami manjši. V skladu z značilnostmi primarnih mikroglij HMC3 in druge klonirane linije niso proizvajale tumorskega nekroznega faktorja alfa (TNFα) niti spontano niti po pro-vnetni stimulaciji, kar poudarja posebno lastnost človeških embrionalnih mikroglij.

SPLOŠNE INFORMACIJE

Opis

Celično linijo Human Microglial Clone 3 (HMC3) je leta 1995 razvila ekipa profesorja Tardieuja z imortalizacijo mikroglijskih celic iz človeških tkiv hrbtenjače in skorje, pridobljenih iz zarodkov, starih od 8 do 12 tednov, v odvisnosti od SV40. Te primarne celice, za katere je značilna počasna delitev in kompleksna morfologija, so bile pred imortalizacijo najprej gojene 10-15 dni. Celice HMC3 so ohranile več ključnih značilnosti primarnih mikroglijev, kot je raznoliko izražanje mieloidnih označevalcev, kot so CD68, CD11b in CD14, čeprav so se ravni izražanja zelo razlikovale glede na izbiro primarnega protitelesa, zlasti za CD68.
Po imortalizaciji so celice HMC3 pokazale večjo stopnjo proliferacije, pri čemer se je čas podvojitve gibal med 24 in 48 urami, hkrati pa so ohranile številne fenotipske in morfološke značilnosti svojih primarnih kolegov. V primerjavi s primarnimi celicami je bil delež celic, pozitivnih na CD68 EBM/11, večji, fagocitna aktivnost pa manjša. Stabilnost antigenskega izražanja je bila potrjena v 35 prehodih, pri čemer so celice ostale pozitivne za NSE, CD68 in CD11b, vendar negativne za CD14, MHCII in CD4 v osnovnih pogojih. Vendar je izpostavljenost interferonu-γ (IFNγ) povečala izražanje MHCII, kar se bolj ujema z odzivi primarnih kultur na isto zdravljenje.
Funkcionalno se je linija HMC3 razlikovala po tem, da je v primerjavi z drugimi kloni v osnovnih pogojih proizvajala višje ravni interlevkina-6 (IL-6). Kljub temu je neposredna primerjava s proizvodnjo citokinov v primarnih mikroglijskih celicah zaradi metodoloških razlik še vedno težavna. Odziv na stimulacijo z lipopolisaharidom (LPS) v teh imortaliziranih linijah je bil v primerjavi s primarnimi kulturami manjši. V skladu z značilnostmi primarnih mikroglij HMC3 in druge klonirane linije niso proizvajale tumorskega nekroznega faktorja alfa (TNFα) niti spontano niti po pro-vnetni stimulaciji, kar poudarja posebno lastnost človeških embrionalnih mikroglij.

Tkivo	Plodovi možgani

Uporaba

3D celična kultura, nevroznanost, nevroinflamacija

Sinonimi

- Human Microglia Clone 3
- CHME-3
- CHME3

RAZVRSTITEV

Organizem	Človek
Seks	Ni navedeno
Lastnosti rasti	Pripadnik

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

Status GSO	GMO-S1

Podrobnosti o statusu GSO

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.

Stopnja biološke varnosti	1

ZNAČILNOSTI

Morfologija	Makrofagi
Vrsta celice	Mikroglijska celica
Čas podvojitve	24 in 48 ur

IDENTIFIKATORJI

Navajanje vira

HMC3 (kataloška številka Cytion 300102)

Davčna identifikacijska številka NCBI	9606
Cellosaurus	CVCL_II76

IZRAŽANJE IN DOVZETNOST

Virusi

Genetski material SV40 je stabilno integriran v genom celice. Pri tem ne prihaja do aktivne proizvodnje ali sproščanja popolnih virusnih delcev, kar zmanjšuje morebitne pomisleke glede biološke varnosti.

RAVNANJE IN GOJENJE

Gojišče

DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/L glukoze, w: 2,5 mM L-glutamina, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM natrijevega piruvata, w: 1,2 g/L NaHCO3 (številka izdelka Cytion 820400a)

Inkubacijska atmosfera	37 °C, 5 %CO2, vlažno ozračje.

Prehranska dopolnila

Gojišče dopolnite z 10 % FBS

Reagenca za disociacijo	Accutase

Preusmeritev v drugo kulturo

Odstranite staro gojišče z adherentnih celic in jih sperite s PBS, ki ne vsebuje kalcija in magnezija. Za bučke T25 uporabite 3-5 ml PBS, za bučke T75 pa 5-10 ml. Nato celice popolnoma prekrijte z Accutase, pri čemer uporabite 1-2 ml za bučke T25 in 2,5 ml za bučke T75. Celice pustite inkubirati pri sobni temperaturi 8-10 minut, da se ločijo. Po inkubaciji celice nežno premešajte z 10 ml gojišča, da se ponovno suspendirajo, nato jih 3 minute centrifugirajte pri 300xg. Zavrzite supernatant, ponovno suspendirajte celice v svežem gojišču in jih prenesite v nove bučke, ki že vsebujejo sveže gojišče.

Odtaljevanje in gojenje

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 KAKOVOSTI IN KRIOPREZERVACIJA

Sterilnost

Kontaminacija z mikoplazmo se izključi z uporabo testov na podlagi PCR in metod za odkrivanje mikoplazme na podlagi luminiscence.
Da se zagotovi, da ni kontaminacije z bakterijami, glivami ali kvasovkami, se celične kulture dnevno vizualno pregledujejo.

Medij za zamrzovanje	Kot gojišče za kriokonzervacijo uporabljamo popolno rastno gojišče (vključno s FBS) + 10 % DMSO za ustrezno vitalnost po odmrznitvi ali CM-1 (kataloška številka 800100 podjetja Cytion), ki vključuje optimizirane osmoprotektante in presnovne stabilizatorje za izboljšanje okrevanja in zmanjšanje stresa, povzročenega s kriom.

Pogoji shranjevanja

Za dolgotrajno shranjevanje viale postavite v tekoči dušik v parni fazi pri približno -150 do -196 °C. Shranjevanje pri -80 °C je sprejemljivo le kot kratek vmesni korak pred prenosom v tekoči dušik.

Pogoji dostave

Kriokonzervirane celične linije se pošiljajo na suhem ledu v potrjeni, izolirani embalaži z zadostno količino hladilnega sredstva, da se med prevozom vzdržuje približno -78 °C. Ob prejemu takoj preglejte embalažo in viale nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.

DONATOR

Starost darovalca	Plod

PRAVNE ZADEVE IN VARNOST

Varnostni ukrepi

Pri načrtovanju shranjevanja kriovialov v tekočem dušiku za kasnejše odtaljevanje je treba obvezno upoštevati stroge varnostne ukrepe. Nujni so ustrezne zaščitne rokavice in oblačila, med prenosom zamrznjenih vzorcev v rezervoar s tekočim dušikom ali iz njega pa je potrebna uporaba obrazne maske ali zaščitnih očal. S tem se zmanjša tveganje poškodb zaradi morebitnih eksplozij kriovialov pri odstranjevanju, ki lahko povzročijo izstrelitev ostrih delcev.

Garancija

V podjetju Cytion stojimo za kakovostjo in uporabnostjo svojih izdelkov.
Zagotavljamo, da bodo naše celice ob začetku gojenja še 60 dni po odpremi iz naših obratov vitalne.
Zagotavljamo, da so vsi materiali skladni s specifikacijami, opisanimi v potrdilu o analizi in/ali listu izdelka
Za vse podrobnosti si oglejte našo <a href=""/Kdo smo/Warranty/"" hreflang=""x-default"">Garancijsko izjavo

Potreben je sporazum o prenosu materiala	Yes