HMC3 Hücreleri

300102

Human Microglial Clone 3 (HMC3) hücre hattı 1995 yılında Profesör Tardieu'nun ekibi tarafından, 8 ila 12 haftalık embriyolardan elde edilen insan omurilik ve kortikal dokularından alınan mikroglial hücrelerin SV40'a bağlı olarak ölümsüzleştirilmesi yoluyla geliştirilmiştir. Yavaş bölünme ve karmaşık morfolojilerle karakterize edilen bu birincil hücreler, ölümsüzleştirilmeden önce başlangıçta 10-15 gün boyunca kültürlendi. HMC3 hücreleri, CD68, CD11b ve CD14 gibi miyeloid belirteçlerin çeşitli ekspresyonu gibi primer mikrogliaların birkaç temel özelliğini korumuştur, ancak ekspresyon seviyeleri, özellikle CD68 için primer antikor seçimine göre önemli ölçüde değişmiştir. İmmortalizasyonun ardından HMC3 hücreleri, birincil muadillerinin birçok fenotipik ve morfolojik özelliğini korurken, 24 ila 48 saat arasında iki katına çıkma süreleriyle gelişmiş proliferasyon oranları sergilemiştir. Özellikle, CD68 EBM/11-pozitif hücrelerin oranı daha yüksekti ve birincil hücrelere kıyasla fagositik aktivitede azalma vardı. Antijenik ifadedeki kararlılık 35 pasaj boyunca doğrulanmış, hücreler NSE, CD68 ve CD11b için pozitif kalırken, temel koşullar altında CD14, MHCII ve CD4 için negatif olmuştur. Bununla birlikte, interferon-γ'ya (IFNγ) maruz kalma MHCII ifadesini yükselterek aynı tedaviye verilen birincil kültür yanıtlarıyla daha yakın bir uyum sağlamıştır.
İşlevsel olarak, HMC3 hattı diğer klonlara kıyasla bazal koşullar altında daha yüksek seviyelerde interlökin-6 (IL-6) üreterek kendini göstermiştir. Buna rağmen, metodolojik farklılıklar nedeniyle birincil mikroglial hücrelerin sitokin üretimiyle doğrudan bir karşılaştırma yapmak zor olmaya devam etmektedir. Bu ölümsüzleştirilmiş hatlarda lipopolisakkarit (LPS) uyarımına verilen yanıt birincil kültürlere göre azalmış görünmektedir. Birincil mikroglial özelliklerle tutarlı olarak, HMC3 ve diğer klonlanmış hatlar, ne kendiliğinden ne de pro-inflamatuar stimülasyonun ardından tümör nekroz faktörü-alfa (TNFα) üretmemiş ve insan embriyonik mikroglialarının spesifik bir özelliğini vurgulamıştır.

GENEL BILGILER

Açıklama

Human Microglial Clone 3 (HMC3) hücre hattı 1995 yılında Profesör Tardieu'nun ekibi tarafından, 8 ila 12 haftalık embriyolardan elde edilen insan omurilik ve kortikal dokularından alınan mikroglial hücrelerin SV40'a bağlı olarak ölümsüzleştirilmesi yoluyla geliştirilmiştir. Yavaş bölünme ve karmaşık morfolojilerle karakterize edilen bu birincil hücreler, ölümsüzleştirilmeden önce başlangıçta 10-15 gün boyunca kültürlendi. HMC3 hücreleri, CD68, CD11b ve CD14 gibi miyeloid belirteçlerin çeşitli ekspresyonu gibi primer mikrogliaların birkaç temel özelliğini korumuştur, ancak ekspresyon seviyeleri, özellikle CD68 için primer antikor seçimine göre önemli ölçüde değişmiştir. İmmortalizasyonun ardından HMC3 hücreleri, birincil muadillerinin birçok fenotipik ve morfolojik özelliğini korurken, 24 ila 48 saat arasında iki katına çıkma süreleriyle gelişmiş proliferasyon oranları sergilemiştir. Özellikle, CD68 EBM/11-pozitif hücrelerin oranı daha yüksekti ve birincil hücrelere kıyasla fagositik aktivitede azalma vardı. Antijenik ifadedeki kararlılık 35 pasaj boyunca doğrulanmış, hücreler NSE, CD68 ve CD11b için pozitif kalırken, temel koşullar altında CD14, MHCII ve CD4 için negatif olmuştur. Bununla birlikte, interferon-γ'ya (IFNγ) maruz kalma MHCII ifadesini yükselterek aynı tedaviye verilen birincil kültür yanıtlarıyla daha yakın bir uyum sağlamıştır.
İşlevsel olarak, HMC3 hattı diğer klonlara kıyasla bazal koşullar altında daha yüksek seviyelerde interlökin-6 (IL-6) üreterek kendini göstermiştir. Buna rağmen, metodolojik farklılıklar nedeniyle birincil mikroglial hücrelerin sitokin üretimiyle doğrudan bir karşılaştırma yapmak zor olmaya devam etmektedir. Bu ölümsüzleştirilmiş hatlarda lipopolisakkarit (LPS) uyarımına verilen yanıt birincil kültürlere göre azalmış görünmektedir. Birincil mikroglial özelliklerle tutarlı olarak, HMC3 ve diğer klonlanmış hatlar, ne kendiliğinden ne de pro-inflamatuar stimülasyonun ardından tümör nekroz faktörü-alfa (TNFα) üretmemiş ve insan embriyonik mikroglialarının spesifik bir özelliğini vurgulamıştır.

Doku	Fetal beyin

Uygulamalar

3D hücre kültürü, Sinirbilim, Nöroinflamasyon

Eş anlamlılar

- Human Microglia Clone 3
- CHME-3
- CHME3

SINIFLANDIRMA

Canlı	İnsan
Cinsiyet	Belirtilmemiş
Büyüme özellikleri	Bağlı

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

GDO durumu	GMO-S1

GDO durumuna ilişkin ayrıntılar

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.

Biyogüvenlik seviyesi	1

ÖZELLIKLER

Morfoloji	Makrofaj
Hücre türü	Mikroglial hücre
İki katına çıkma süresi	24 ve 48 saat

TANIMLAYICILAR

Kaynak gösterimi

HMC3 (Cytion katalog numarası 300102)

NCBI Vergi Kimlik Numarası	9606
Cellosaurus	CVCL_II76

İFADE VE DUYARLILIK

Virüsler

SV40 genetik materyali hücre genomuna stabil bir şekilde entegre edilir. Tam viral partiküllerin aktif üretimi veya salınımı söz konusu değildir, bu da potansiyel biyogüvenlik endişelerini azaltır.

İŞLEME VE YETIŞTIRME

Besiyeri

DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3.1 g/L Glukoz, w: 2.5 mM L-Glutamin, w: 15 mM HEPES, w: 0.5 mM Sodyum piruvat, w: 1.2 g/L NaHCO3 (Cytion makale numarası 820400a)

Kuluçka ortamı	37°C, %5CO2, nemlendirilmiş atmosfer.

Takviyeler

Ortamı %10 FBS ile takviye edin

Ayrıştırma reaktifi	Accutase

Alt kültür oluşturma

Yapışık hücrelerden eski ortamı çıkarın ve kalsiyum ve magnezyum içermeyen PBS ile yıkayın. T25 şişeleri için 3-5 ml PBS ve T75 şişeleri için 5-10 ml kullanın. Ardından, T25 flasklar için 1-2 ml ve T75 flasklar için 2,5 ml kullanarak hücreleri Accutase ile tamamen kaplayın. Hücreleri ayırmak için oda sıcaklığında 8-10 dakika inkübasyona bırakın. İnkübasyondan sonra, hücreleri yeniden süspanse etmek için 10 ml besiyeriyle hafifçe karıştırın, ardından 300xg'de 3 dakika santrifüjleyin. Süpernatantı atın, hücreleri taze besiyerinde yeniden süspanse edin ve zaten taze besiyeri içeren yeni şişelere aktarın.

Çözme ve kültürleme

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.

KALITE KONTROL VE KRIYOPREZERVASYON

Kısırlık

Mikoplazma kontaminasyonu hem PCR tabanlı tahliller hem de lüminesans tabanlı mikoplazma tespit yöntemleri kullanılarak dışlanır. Bakteriyel, fungal veya maya kontaminasyonu olmadığından emin olmak için hücre kültürleri günlük görsel incelemelere tabi tutulur.

Dondurma ortamı	Kriyoprezervasyon ortamı olarak, yeterli çözülme sonrası canlılık için tam büyüme ortamı (FBS dahil) + %10 DMSO veya iyileşmeyi artırmak ve kriyo-indüklenmiş stresi azaltmak için optimize edilmiş ozmoprotektanlar ve metabolik stabilizatörler içeren CM-1 (Cytion katalog numarası 800100) kullanıyoruz.

Saklama koşulları

Uzun süreli muhafaza için flakonları yaklaşık -150 ila -196 °C'de buhar fazlı sıvı nitrojen içine yerleştirin. 80 °C'de saklama yalnızca sıvı nitrojene aktarılmadan önce kısa bir ara adım olarak kabul edilebilir.

Nakliye koşulları

Kriyoprezerve edilmiş hücre hatları, nakliye boyunca yaklaşık -78 °C'yi korumak için yeterli soğutucu akışkan içeren, onaylanmış, yalıtılmış ambalajlarda kuru buz üzerinde gönderilir. Teslim aldığınızda, kabı hemen inceleyin ve flakonları gecikmeden uygun depoya aktarın.

BAĞIŞÇI

Bağışçının yaşı	Fetüs

YASAL VE GÜVENLIK

Güvenlik önlemleri

İleride çözdürmek üzere sıvı nitrojen içinde bir kriyoviyal saklamayı planlarken, sıkı güvenlik önlemlerine uymak zorunludur. Uygun koruyucu eldivenler ve giysiler şarttır ve dondurulmuş numunelerin sıvı nitrojen tankına veya tanktan transferi sırasında yüz maskesi veya koruyucu gözlük kullanılması gerekir. Bu, çıkarma sırasında keskin parçaların fırlamasına neden olabilecek potansiyel kriyoviyal patlamalardan kaynaklanan yaralanma riskini azaltmak içindir.

Garanti

Cytion olarak ürünlerimizin kalitesinin ve canlılığının arkasındayız.
Hücrelerimizin, tesislerimizden sevkiyattan sonra 60 gün boyunca kültürün başlangıcında canlı olacağını garanti ediyoruz.
Tüm malzemelerin Analiz Sertifikası ve/veya Ürün Sayfasında açıklanan özelliklere uygun olduğunu garanti ediyoruz
Tüm ayrıntılar için lütfen <a href=""/Who-we-are/Warranty/"" hreflang=""x-default"">Garanti Beyanımıza bakın

Malzeme Transfer Anlaşması gereklidir	Yes