

Клетки НМС3 | 300102

Обща информация

Description

Клетъчната линия Human Microglial Clone 3 (НМС3) е разработена през 1995 г. от екипа на професор Тардьо чрез SV40-зависима имортализация на микроглиални клетки от човешки гръбначен мозък и кортикални тъкани, получени от ембриони на възраст между 8 и 12 седмици. Тези първични клетки, характеризиращи се с бавно делене и сложна морфология, първоначално са култивирани в продължение на 10-15 дни, преди да бъдат имортализирани. Клетките НМС3 запазват няколко ключови характеристики на първичните микроглии, като например разнообразна експресия на миелоидни маркери като CD68, CD11b и CD14, въпреки че нивата на експресия варират значително в зависимост от избора на първично анти тяло, особено за CD68.

След имортализацията клетките НМС3 показват повишена степен на пролиферация, като времето за удвояване е между 24 и 48 часа, като същевременно запазват много фенотипни и морфологични характеристики на своите първични аналози. Забележително е, че се наблюдава по-висок дял на CD68 EBМ/11-положителните клетки и намаляване на фагоцитната активност в сравнение с първичните клетки. Стабилността на антигенната експресия е потвърдена през 35 пасажа, като клетките остават положителни за NSE, CD68 и CD11b, но отрицателни за CD14, МНСII и CD4 при базови условия. Въпреки това, излагането на интерферон-γ (IFNγ) повишава експресията на МНСII, което е по-близко до отговорите на първичните култури на същото третиране.

Във функционално отношение линията НМС3 се отличава с по-високи нива на интерлевкин-6 (IL-6) при базови условия в сравнение с другите клонове. Въпреки това директното сравнение с производството на цитокини от първичните микроглиални клетки остава предизвикателство поради методологичните различия. Отговорът към стимулация с липополизахарид (LPS) при тези имортализирани линии изглежда намален в сравнение с първичните култури. В съответствие с характеристиките на първичните микроглии, НМС3 и другите клонирани линии не произвеждат тумор некротизиращ фактор алфа (TNFα), нито спонтанно, нито след провъзпалителна стимулация, което подчертава специфична черта на човешките ембрионални микроглии.

Organism Човек

Tissue Фетален мозък

Applications 3D клетъчна култура, Неврология, Невроинфламация

Synonyms Човешки микроглия клонинг 3, CHME-3, CHME3

Характеристики

Age Плод

Gender Неуточнено

Morphology Макрофаги

Клетки НМС3 | 300102

Cell type Микроглиална клетка

Growth properties Придържачи се

Регулаторни данни

Citation НМС3 (каталожен номер 300102 на Cytion)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_I176

GMO Status GMO-S1: Тази клетъчна линия на човешки ембрионален мозъчен микроглия (НМС3) съдържа SV40 Т-антиген конструкт, въведен чрез трансфекция, който подпомага имортализацията. Вложката е стабилно налична в клетките, получени от микроглия. Тази класификация се прилага само в Германия и може да се различава в други страни.

Биомолекулярни данни

Viruses Генетичният материал на SV40 се интегрира стабилно в генома на клетката. Няма активно производство или освобождаване на пълни вирусни частици, което намалява потенциалните опасения за биологична безопасност.

Работа с

Culture Medium DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/L глюкоза, w: 2,5 mM L-глутамин, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM натриев пируват, w: 1,2 g/L NaHCO₃ (номер на изделиято на Cytion 820400a)

Supplements Допълнете средата с 10% FBS

Dissociation Reagent Accutase

Doubling time 24 и 48 часа

Клетки НМС3 | 300102

Subculturing

Отстранете старата среда от адхезивните клетки и ги промийте с PBS, която не съдържа калций и магнезий. За колби T25 използвайте 3-5 ml PBS, а за колби T75 - 5-10 ml. След това покрийте клетките изцяло с Accutase, като използвате 1-2 ml за колби T25 и 2,5 ml за колби T75. Оставете клетките да се инкубират на стайна температура за 8-10 минути, за да се отделят. След инкубацията внимателно разбъркайте клетките с 10 ml среда, за да ги ресуспендирайте, след което центрофугирайте при 300xg за 3 минути. Изхвърлете супернатантата, ресуспендирайте клетките в прясна среда и ги прехвърлете в нови колби, които вече съдържат прясна среда.

Freeze medium

Като среда за криоконсервация използваме пълна среда за растеж (включително FBS) + 10% DMSO за адекватна жизнеспособност след размразяване или CM-1 (каталожен номер 800100 на Cytion), която включва оптимизирани осмопротектори и метаболитни стабилизатори за подобряване на възстановяването и намаляване на криоиндуцирания стрес.

Thawing and Culturing Cells

1. Уверете се, че флаконът остава дълбоко замразен при доставката, тъй като клетките се транспортират със сух лед, за да се поддържат оптимални температури по време на транспортирането.
2. При получаване или съхранявайте незабавно криовиолата при температури под -150°C , за да осигурите запазване на клетъчната цялост, или преминете към стъпка 3, ако е необходимо незабавно култивиране.
3. За незабавно култивиране бързо размразете флакона, като го потопите във водна баня с чиста вода и антимикробен агент с температура 37°C , като разбърквате внимателно в продължение на 40-60 секунди, докато остане малка ледена бучка.
4. Извършвайте всички следващи стъпки при стерилни условия в аспиратор, като преди отваряне дезинфекцирате криовиолата със 70% етанол.
5. Внимателно отворете дезинфекцирания флакон и прехвърлете клетъчната суспензия в 15 ml центрофужна епруветка, съдържаща 8 ml хранителна среда със стайна температура, като разбърквате внимателно.
6. Центрофугирайте сместа при 300 x g в продължение на 3 минути, за да отделите клетките, и внимателно изхвърлете супернатантата, съдържаща остатъчна замразяваща среда.
7. Внимателно ресуспендирайте клетъчната пелета в 10 ml прясна хранителна среда. За адхезивни клетки разделете суспензията между две колби T25; за суспензионни култури прехвърлете цялата среда в една колба T25, за да стимулирате ефективното взаимодействие и растеж на клетките.
8. Придържайте се към установените протоколи за субкултивиране за непрекъснат растеж и поддържане на клетъчната линия, като гарантирате надеждни експериментални резултати.

Клетки НМС3 | 300102

Incubation Atmosphere 37°C, 5% CO₂, овлажнена атмосфера.

Flask Coating Няма

Freezing Procedure Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително -78 °C по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

Shipping Conditions Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително -78 °C по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

Storage Conditions За дълготрайно съхранение поставете флаконите в течен азот в парна фаза при температура около -150 до -196 °C. Съхранението при -80 °C е приемливо само като кратък междинен етап преди прехвърлянето в течен азот.

Контрол на качеството / Генетичен профил / HLA

Sterility Замърсяването с микоплазма се изключва както чрез PCR-базирани анализи, така и чрез луминесцентни методи за откриване на микоплазма.

За да се гарантира, че няма бактериално, гъбично или дрождево замърсяване, клетъчните култури се подлагат на ежедневни визуални проверки.