Product sheet

Buňky HMC3 | 300102

Obecné informace

Description	Buněčná linie Human Microglial Clone 3 (HMC3) byla vyvinuta v roce 1995 týmem profesora Tardieuho prostřednictvím imortalizace mikrogliových buněk z lidské míchy a korové tkáně, získaných z embryí ve věku 8 až 12 týdnů, v závislosti na SV40. Tyto primární buňky, které se vyznačují pomalým dělením a složitou morfologií, byly před imortalizací zpočátku kultivovány po dobu 10 až 15 dnů. Buňky HMC3 si zachovaly několik klíčových znaků primárních mikroglie, jako je různorodá exprese myeloidních markerů, jako jsou CD68, CD11b a CD14, ačkoli úrovně exprese se výrazně lišily podle výběru primární protilátky, zejména pro CD68. Po imortalizaci vykazovaly buňky HMC3 zvýšenou míru proliferace s dobou zdvojení mezi 24 a 48 hodinami, přičemž si zachovaly mnoho fenotypových a morfologických charakteristik svých primárních protějšků. Pozoruhodný byl vyšší podíl CD68 EBM/11 pozitivních buněk a snížení fagocytární aktivity ve srovnání s primárními buňkami. Stabilita antigenní exprese byla potvrzena napříč 35 pasážemi, přičemž buňky zůstaly pozitivní pro NSE, CD68 a CD11b, ale negativní pro CD14, MHCII a CD4 za základních podmínek. Vystavení interferonu-γ (IFNγ) však zvýšilo expresi MHCII, což se více shodovalo s reakcí primární kultury na stejnou léčbu. Z funkčního hlediska se linie HMC3 vyznačovala vyšší produkcí interleukinu-6 (IL-6) za základních podmínek ve srovnání s ostatními klony. Přesto zůstává přímé srovnání s produkcí cytokinů primárními mikrogliovými buňkami kvůli metodickým rozdílům obtížné. Odpověď na stimulaci lipopolysacharidem (LPS) se u těchto imortalizovaných linií jevila jako snížená ve srovnání s primárními kulturami. V souladu s charakteristikami primárních mikroglií HMC3 a další klonované linie neprodukovaly tumor nekrotizující faktor alfa (TNFα), a to ani spontánně, ani po prozánětlivé stimulaci, což zdůrazňuje specifickou vlastnost lidských embryonálních mikroglií.
Organism	Člověk
Tissue	Fetální mozek
Applications	3D buněčné kultury, neurovědy, neuroinflamace
Synonyms	Klon lidské mikroglie 3, CHME-3, CHME3

Charakteristika

Age	Plod
Gender	Nespecifikováno
Morphology	Makrofágy
Cell type	Mikrogliová buňka
Growth properties	Adherentní

Product sheet

Buňky HMC3 | 300102

Regulační údaje

Citation	HMC3 (katalogové číslo Cytion 300102)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_II76
GMO Status	GMO-S1: Tato linie lidských fetálních mozkových mikroglie (HMC3) obsahuje konstrukt SV40 T-Antigen zavedený transfekcí, který podporuje imortalizaci. Vložka je stabilně přítomna v buňkách odvozených od mikroglie. Tato klasifikace platí pouze v Německu a jinde se může lišit.

Biomolekulární data

Viruses	Genetický materiál SV40 je stabilně integrován do genomu buňky. Nedochází k aktivní produkci ani uvolňování kompletních virových částic, což zmírňuje potenciální obavy z biologické bezpečnosti.

Zpracování

Culture Medium	DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/l glukózy, w: 2,5 mM L-Glutaminu, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM pyruvátu sodného, w: 1,2 g/l NaHCO3 (číslo výrobku Cytion 820400a)
Supplements	Doplňte médium o 10% FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	24 a 48 hodin
Subculturing	Odstraňte staré médium z adherovaných buněk a promyjte je PBS bez vápníku a hořčíku. Pro baňky T25 použijte 3-5 ml PBS a pro baňky T75 5-10 ml. Poté buňky zcela zakryjte přípravkem Accutase, přičemž použijte 1-2 ml pro baňky T25 a 2,5 ml pro baňky T75. Nechte buňky inkubovat při pokojové teplotě po dobu 8-10 minut, aby se oddělily. Po inkubaci jemně promíchejte buňky s 10 ml média, aby byly znovu suspendovány, a poté je odstřeďte při 300xg po dobu 3 minut. Supernatant vyhoďte, buňky znovu rozpusťte v čerstvém médiu a přeneste je do nových baněk, které již obsahují čerstvé médium.
Freeze medium	Jako kryokonzervační médium používáme kompletní růstové médium (včetně FBS) + 10 % DMSO pro zajištění dostatečné životaschopnosti po rozmrazení nebo CM-1 (katalogové číslo 800100 společnosti Cytion), které obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory pro zlepšení regenerace a snížení stresu způsobeného kryo.

Buňky HMC3 | 300102

Thawing and Culturing Cells

1. Ověřte si, že lahvička zůstane při dodání hluboce zmražená, protože buňky se přepravují na suchém ledu, aby se během přepravy udržely optimální teploty.
2. Po obdržení kryovialku buď okamžitě uložte při teplotě nižší než -150 °C, abyste zajistili zachování buněčné integrity, nebo přejděte ke kroku 3, pokud je nutná okamžitá kultivace.
3. Pro okamžitou kultivaci rychle rozmrazte lahvičku ponořením do vodní lázně o teplotě 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálním prostředkem a jemně ji míchejte po dobu 40-60 sekund, dokud nezůstane malý ledový chuchvalec.
4. Všechny další kroky provádějte za sterilních podmínek v průtokové digestoři a před otevřením kryovialku dezinfikujte 70% ethanolem.
5. Opatrně otevřete dezinfikovanou lahvičku a přeneste buněčnou suspenzi do 15 ml centrifugační zkumavky obsahující 8 ml kultivačního média o pokojové teplotě a jemně promíchejte.
6. Směs odstřeďujte při 300 x g po dobu 3 minut, aby se buňky oddělily, a supernatant obsahující zbytky mrazicího média opatrně zlikvidujte.
7. Pelety buněk jemně resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačního média. U adherentních buněk rozdělte suspenzi mezi dvě kultivační baňky T25; u suspenzních kultur přeneste veškeré médium do jedné baňky T25, abyste podpořili účinnou interakci a růst buněk.
8. Dodržujte zavedené subkultivační protokoly pro kontinuální růst a udržování buněčné linie, čímž zajistíte spolehlivé výsledky experimentů.

Incubation Atmosphere

37 °C, 5 % $_{CO2}$, zvlhčená atmosféra.

Flask Coating

Žádný

Freezing Procedure

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

Shipping Conditions

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

Storage Conditions	Pro dlouhodobé uchování umístěte lahvičky do kapalného dusíku v plynné fázi při teplotě přibližně -150 až -196 °C. Skladování při -80 °C je přijatelné pouze jako krátký přechodný krok před přemístěním do kapalného dusíku.

Kontrola kvality a molekulární analýza

Sterility	Kontaminace mykoplazmaty je vyloučena jak pomocí testů založených na PCR, tak pomocí luminiscenčních metod detekce mykoplazmy. Aby se zajistilo, že nedojde ke kontaminaci bakteriemi, plísněmi nebo kvasinkami, jsou buněčné kultury denně podrobovány vizuálním kontrolám.
Profil STR	**Amelogenin**: x,x **CSF1PO**: 10,11 **D13S317**: 11 **D16S539**: 12,13 **D5S818**: 11,12 **D7S820**: 9,11 **TH01**: 6 **TPOX**: 8,9 **vWA**: 17,19 **D3S1358**: 16,18 **D21S11**: 30,31.2 **D18S51**: 18 **Penta E**: 7,13 **Penta D**: 10,14 **D8S1179**: 13,14 **FGA**: 21,25 **D6S1043**: 11 **D2S1338**: 17,25 **D12S391**: 16,21 **D19S433**: 15,15.2