

Κύτταρα HMC3 | 300102

Γενικές πληροφορίες

Description

Η κυτταρική σειρά Human Microglial Clone 3 (HMC3) αναπτύχθηκε το 1995 από την ομάδα του καθηγητή Tardieu μέσω της SV40-εξαρτώμενης αθανασίας μικρογλοιακών κυττάρων από ανθρώπινους ιστούς του νωτιαίου μυελού και του φλοιού, που προέρχονταν από έμβρυα ηλικίας 8 έως 12 εβδομάδων. Αυτά τα πρωτογενή κύτταρα, που χαρακτηρίζονται από αργή διαίρεση και σύνθετη μορφολογία, καλλιιεργήθηκαν αρχικά για 10-15 ημέρες πριν από την αθανασία. Τα κύτταρα HMC3 διατήρησαν αρκετά βασικά χαρακτηριστικά της πρωτογενούς μικρογλοίας, όπως η ποικιλόμορφη έκφραση μυελοειδών δεικτών όπως το CD68, το CD11b και το CD14, αν και τα επίπεδα έκφρασης διέφεραν σημαντικά ανάλογα με την επιλογή του πρωτογενούς αντισώματος, ιδίως για το CD68.

Μετά την αθανατοποίηση, τα κύτταρα HMC3 παρουσίασαν αυξημένους ρυθμούς πολλαπλασιασμού, με χρόνους διπλασιασμού μεταξύ 24 και 48 ωρών, ενώ διατήρησαν πολλά φαινοτυπικά και μορφολογικά χαρακτηριστικά των πρωτογενών ομολόγων τους. Ειδικότερα, παρατηρήθηκε υψηλότερο ποσοστό CD68 EBM/11-θετικών κυττάρων και μείωση της φαγοκυτταρικής δραστηριότητας σε σύγκριση με τα πρωτογενή κύτταρα. Η σταθερότητα της αντιγονικής έκφρασης επιβεβαιώθηκε σε 35 περάσματα, με τα κύτταρα να παραμένουν θετικά για NSE, CD68 και CD11b, αλλά αρνητικά για CD14, MHCII και CD4 υπό βασικές συνθήκες. Ωστόσο, η έκθεση σε ιντερφερόνη-γ (IFNγ) αύξησε την έκφραση του MHCII, ευθυγραμμιζόμενη περισσότερο με τις απαντήσεις της πρωτογενούς καλλιέργειας στην ίδια θεραπεία.

Λειτουργικά, η σειρά HMC3 ξεχώριζε με την παραγωγή υψηλότερων επιπέδων ιντερλευκίνης-6 (IL-6) σε βασικές συνθήκες σε σύγκριση με άλλους κλώνους. Παρόλα αυτά, η άμεση σύγκριση με την παραγωγή κυτταροκινών των πρωτογενών μικρογλοιακών κυττάρων παραμένει πρόκληση λόγω μεθοδολογικών διαφορών. Η απόκριση στη διέγερση με λιποπολυσακχαρίτη (LPS) σε αυτές τις αθάνατες σειρές εμφανίστηκε μειωμένη σε σχέση με τις πρωτογενείς καλλιέργειες. Σύμφωνα με τα χαρακτηριστικά των πρωτογενών μικρογλοιακών κυττάρων, η HMC3 και άλλες κλωνοποιημένες σειρές δεν παρήγαγαν τον παράγοντα νέκρωσης όγκων-άλφα (TNFα), είτε αυθόρμητα είτε μετά από προφλεγμονώδη διέγερση, αναδεικνύοντας ένα ειδικό χαρακτηριστικό των ανθρώπινων εμβρυϊκών μικρογλοιακών κυττάρων.

Organism

Ανθρώπινο

Tissue

Εμβρυϊκός εγκέφαλος

Applications

3D κυτταρική καλλιέργεια, Νευροεπιστήμη, Νευροφλεγμονή

Synonyms

Ανθρώπινος κλώνος μικρογλοίας 3, CHME-3, CHME3

Χαρακτηριστικά

Age

Έμβρυο

Gender

Απροσδιόριστο

Morphology

Μακροφάγα

Κύτταρα HMC3 | 300102

Cell type Μικρογλοιακό κύτταρο

Growth properties Προσκολλημένο

Ρυθμιστικά δεδομένα

Citation HMC3 (αριθμός καταλόγου Cytion 300102)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_I176

GMO Status GMO-S1: Αυτή η ανθρώπινη εμβρυϊκή κυτταρική σειρά μικρογλοίας εγκεφάλου (HMC3) περιέχει μια κατασκευή SV40 T-αντιγόνου που εισάγεται με διαμόλυνση, υποστηρίζοντας την αθανασία. Το ένθετο είναι σταθερά παρόν σε κύτταρα που προέρχονται από μικρογλοία. Αυτή η ταξινόμηση ισχύει μόνο εντός της Γερμανίας και ενδέχεται να διαφέρει αλλού.

Βιομοριακά δεδομένα

Viruses Το γενετικό υλικό SV40 ενσωματώνεται σταθερά στο γονιδίωμα του κυττάρου. Δεν υπάρχει ενεργή παραγωγή ή απελευθέρωση πλήρων ιικών σωματιδίων, γεγονός που μετριάξει τις πιθανές ανησυχίες για τη βιοασφάλεια.

Χειρισμός

Culture Medium DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/L γλυκόζη, w: 2,5 mM L-γλουταμίνη, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM πυρουβικό νάτριο, w: 1,2 g/L NaHCO₃ (αριθμός άρθρου Cytion 820400a)

Supplements Συμπληρώστε το μέσο με 10% FBS

Dissociation Reagent Accutase

Doubling time 24 και 48 ώρες

Κύτταρα HMC3 | 300102**Subculturing**

Αφαιρέστε το παλιό μέσο από τα προσκολλημένα κύτταρα και πλύντε τα με PBS που δεν περιέχει ασβέστιο και μαγνήσιο. Για φιάλες T25, χρησιμοποιήστε 3-5 ml PBS και για φιάλες T75, χρησιμοποιήστε 5-10 ml. Στη συνέχεια, καλύψτε πλήρως τα κύτταρα με Accutase, χρησιμοποιώντας 1-2 ml για φιάλες T25 και 2,5 ml για φιάλες T75. Αφήστε τα κύτταρα να επωαστούν σε θερμοκρασία δωματίου για 8-10 λεπτά για να αποκολληθούν. Μετά την επώαση, αναμείξτε απαλά τα κύτταρα με 10 ml μέσου για να ανασυσταθούν και, στη συνέχεια, φυγοκεντρίστε στα 300xg για 3 λεπτά. Απορρίψτε το υπερκείμενο υγρό, ανασυστάστε τα κύτταρα σε φρέσκο μέσο και μεταφέρετέ τα σε νέες φιάλες που περιέχουν ήδη φρέσκο μέσο.

Freeze medium

Ως μέσο κρυοσυντήρησης, χρησιμοποιούμε πλήρες μέσο ανάπτυξης (συμπεριλαμβανομένου του FBS) + 10% DMSO για επαρκή βιωσιμότητα μετά την απόψυξη, ή CM-1 (αριθμός καταλόγου Cytion 800100), το οποίο περιλαμβάνει βελτιστοποιημένα ωσμοπροστατευτικά και μεταβολικούς σταθεροποιητές για την ενίσχυση της ανάκαμψης και τη μείωση του στρες που προκαλείται από την κρυοσυντήρηση.

Thawing and Culturing Cells

1. Επιβεβαιώστε ότι το φιαλίδιο παραμένει βαθιά παγωμένο κατά την παράδοση, καθώς τα κύτταρα αποστέλλονται σε ξηρό πάγο για να διατηρούνται οι βέλτιστες θερμοκρασίες κατά τη μεταφορά.
2. Κατά την παραλαβή, είτε αποθηκεύστε το κρυοφιαλίδιο αμέσως σε θερμοκρασίες κάτω των -150°C για να διασφαλίσετε τη διατήρηση της κυτταρικής ακεραιότητας, είτε προχωρήστε στο βήμα 3 εάν απαιτείται άμεση καλλιέργεια.
3. Για άμεση καλλιέργεια, αποψύξτε γρήγορα το φιαλίδιο βυθίζοντάς το σε υδατόλουτρο 37°C με καθαρό νερό και αντιμικροβιακό παράγοντα, αναδεύοντας απαλά για 40-60 δευτερόλεπτα μέχρι να παραμείνει ένα μικρό σβόλο πάγου.
4. Εκτελέστε όλα τα επόμενα βήματα υπό αποστειρωμένες συνθήκες σε απορροφητήρα ροής, απολυμαίνοντας το κρυοφιαλίδιο με 70% αιθανόλη πριν από το άνοιγμα.
5. Ανοίξτε προσεκτικά το απολυμασμένο φιαλίδιο και μεταφέρετε το εναιώρημα των κυττάρων σε ένα σωληνάριο φυγοκέντρησης των 15 ml που περιέχει 8 ml θρεπτικού μέσου καλλιέργειας σε θερμοκρασία δωματίου, αναμειγνύοντας απαλά.
6. Φυγοκεντρίστε το μείγμα στα 300 x g για 3 λεπτά για να διαχωριστούν τα κύτταρα και απορρίψτε προσεκτικά το υπερκείμενο που περιέχει το υπόλοιπο μέσο κατάψυξης.
7. Επανασυσσωματώστε απαλά το κυτταρικό σφαιρίδιο σε 10 ml φρέσκου μέσου καλλιέργειας. Για προσκολλημένα κύτταρα, μοιράστε το εναιώρημα σε δύο φιάλες καλλιέργειας T25- για καλλιέργειες εναιωρήματος, μεταφέρετε όλο το μέσο σε μία φιάλη T25 για να προωθήσετε την αποτελεσματική αλληλεπίδραση και ανάπτυξη των κυττάρων.
8. Τηρείτε τα καθιερωμένα πρωτόκολλα υποκαλλιέργειας για τη συνεχή ανάπτυξη και διατήρηση της κυτταρικής σειράς, εξασφαλίζοντας αξιόπιστα πειραματικά αποτελέσματα.

Κύτταρα HMC3 | 300102

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO₂, υγροποιημένη ατμόσφαιρα.

Flask Coating

Για βέλτιστη προσκόλληση και βιωσιμότητα μετά την απόψυξη, συνιστούμε τη χρήση **φιαλών ή πλακών με επικάλυψη κολλαγόνου**.

Freezing Procedure

Οι κρουσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των -78 °C καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.

Shipping Conditions

Οι κρουσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των -78 °C καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.

Storage Conditions

Για μακροχρόνια συντήρηση, τοποθετήστε τα φιαλίδια σε υγρό άζωτο σε φάση ατμών σε θερμοκρασία περίπου -150 έως -196 °C. Η αποθήκευση στους -80 °C είναι αποδεκτή μόνο ως σύντομο ενδιάμεσο βήμα πριν από τη μεταφορά σε υγρό άζωτο.

Ποιοτικός έλεγχος / Γενετικό προφίλ / HLA

Sterility

Η μόλυνση από μυκόπλασμα αποκλείεται με τη χρήση τόσο των δοκιμασιών που βασίζονται στην PCR όσο και των μεθόδων ανίχνευσης μυκοπλάσματος με βάση τη φωταύγεια.

Για να διασφαλιστεί ότι δεν υπάρχει μόλυνση από βακτήρια, μύκητες ή ζύμες, οι κυτταροκαλλιέργειες υποβάλλονται σε καθημερινές οπτικές επιθεωρήσεις.