

HMC3 sejtek | 300102

Általános információk

Description

A Human Microglial Clone 3 (HMC3) sejt vonalat 1995-ben fejlesztette ki Tardieu professzor csoportja a 8-12 hetes embriókból nyert emberi gerincvelő- és agykérgi szövetekből származó mikroglia sejtek SV40-függő immortalizációjával. Ezeket a lassú osztódással és összetett morfológiával jellemezhető primer sejteket kezdetben 10-15 napig tenyésztették az immortalizálás előtt. A HMC3 sejtek megtartották a primer mikroglia számos kulcsfontosságú jellemzőjét, például a myeloid markerek, mint a CD68, CD11b és CD14 változatos expresszióját, bár az expressziós szintek jelentősen változtak a primer antitest kiválasztásától függően, különösen a CD68 esetében.

Az immortalizációt követően a HMC3 sejtek fokozott proliferációs rátát mutattak, 24 és 48 óra közötti megduplázódási idővel, miközben megőrizték primer társaik számos fenotípusos és morfológiai jellemzőjét. Különösen a CD68 EBM/11-pozitív sejtek aránya volt magasabb, és csökkent a fagocitikus aktivitás az elsődleges sejtekhez képest. Az antigén-expresszió stabilitását 35 passzáson keresztül igazolták, a sejtek pozitívak maradtak NSE, CD68 és CD11b, de negatívak CD14, MHCII és CD4 tekintetében a kiindulási körülmények között. Az interferon- γ (IFN γ) expozíció azonban megemelte az MHCII expresszióját, ami jobban illeszkedik az ugyanerre a kezelésre adott primer tenyészválaszokhoz.

Funkcionálisan a HMC3 vonal azzal tűnt ki, hogy a többi klónhoz képest magasabb interleukin-6 (IL-6) szintet termelt bázis körülmények között. Ennek ellenére a primer mikroglia sejtek citokintermelésével való közvetlen összehasonlítás a módszertani különbségek miatt továbbra is kihívást jelent. A lipopoliszacharid (LPS) stimulációra adott válasz ezekben az immortalizált vonalakban csökkentnek tűnt a primer kultúrákhoz képest. A primer mikroglia jellemzőivel összhangban a HMC3 és más klónozott vonalak nem termeltek tumor nekrotikus faktor-alfa-t (TNF α) sem spontán, sem pro-inflammatorikus stimulációt követően, kiemelve a humán embrionális mikroglia egy sajátos tulajdonságát.

Organism Emberi

Tissue Magzati agy

Applications 3D sejt kultúra, Idegtudomány, Ideggyulladás, Neuroinflammáció

Synonyms Humán mikroglia klón 3, CHME-3, CHME3

Jellemzők

Age Magzat

Gender Meghatározatlan

Morphology Makrofágok

Cell type Mikroglia sejt

HMC3 sejtek | 300102

Growth properties	Adherent
--------------------------	----------

Szabályozási adatok

Citation	HMC3 (Cytion katalógusszám: 300102)
-----------------	-------------------------------------

Biosafety level	1
------------------------	---

NCBI_TaxID	9606
-------------------	------

CellosaurusAccession	CVCL_I176
-----------------------------	-----------

GMO Status	GMO-S1: Ez a humán magzati agyi mikroglia sejtvonal (HMC3) transzfekcióval bevitt SV40 T-Antigén konstrukciót tartalmaz, amely támogatja az immortalizációt. Az inzert stabilan jelen van a mikroglia-eredetű sejtekben. Ez a besorolás csak Németországban érvényes, máshol ettől eltérhet.
-------------------	--

Biomolekuláris adatok

Viruses	Az SV40 genetikai anyaga stabilan beépül a sejt genomjába. Nincs aktív termelés vagy a teljes vírusrészecskék kibocsátása, ami csökkenti a biológiai biztonsággal kapcsolatos potenciális aggályokat.
----------------	---

A kezelése

Culture Medium	DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/L glükóz, w: 2,5 mM L-Glutamin, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM nátrium-piruvát, w: 1,2 g/L NaHCO ₃ (Cytion 820400a cikkszám)
-----------------------	---

Supplements	A táptalajt egészítsük ki 10% FBS-szel
--------------------	--

Dissociation Reagent	Accutase
-----------------------------	----------

Doubling time	24 és 48 óra
----------------------	--------------

Subculturing	Távolítsa el a régi táptalajt a megtapadt sejtekről, és mossa őket kalcium- és magnéziummentes PBS-szel. T25-ös lombikokhoz 3-5 ml PBS-t, T75-ös lombikokhoz pedig 5-10 ml-t használjunk. Ezután fedjük be a sejteket teljesen Accutase-zal, T25 lombikok esetében 1-2 ml-t, T75 lombikok esetében 2,5 ml-t használva. A sejteket 8-10 percre hagyjuk szobahőmérsékleten inkubálni, hogy leváljanak. Az inkubálás után óvatosan keverjük össze a sejteket 10 ml tápfolyadékkal, hogy reszuszpendáljuk őket, majd centrifugáljuk 300xg-nél 3 percre. Dobja el a felülúszót, szuszpendálja újra a sejteket friss tápfolyadékban, és helyezze át őket új lombikokba, amelyek már friss tápfolyadékot tartalmaznak.
---------------------	---

HMC3 sejtek | 300102

Freeze medium

Krioprezerváló táptalajként teljes növekedési táptalajt (beleértve az FBS-t) + 10% DMSO-t használunk a megfelelő kiolvasztás utáni életképesség érdekében, vagy CM-1-et (Cytion katalógusszám: 800100), amely optimalizált ozmoprotektánsokat és metabolikus stabilizátorokat tartalmaz a regenerálódás fokozása és a krio-indukált stressz csökkentése érdekében.

Thawing and Culturing Cells

1. Ellenőrizze, hogy az injekciós üveg a szállításkor mélyhűtött marad-e, mivel a sejteket szárazjégen szállítják, hogy a szállítás során az optimális hőmérsékletet fenntartsák.
2. Átvételt követően vagy azonnal tárolja a krioampullát $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ alatti hőmérsékleten a sejtek integritásának megőrzése érdekében, vagy folytassa a 3. lépéssel, ha azonnali tenyésztésre van szükség.
3. Azonnali tenyésztés esetén gyorsan fel kell olvasztani az injekciós üveget úgy, hogy tiszta vízzel és antimikrobiális szerrel ellátott $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ -os vízfürdőbe merítjük, és 40-60 másodpercig óvatosan kevergetjük, amíg egy kis jégcsomó nem marad.
4. Az összes további lépést steril körülmények között, áramlásos elszívóban végezzük el, és nyitás előtt fertőtlenítsük a krioüveget 70%-os etanollal.
5. Óvatosan nyissa fel a fertőtlenített fiolát, és a sejtszuszpenziót óvatosan összekeverve helyezze át egy 15 ml-es centrifugacsőbe, amely 8 ml szobahőmérsékletű táptalajt tartalmaz.
6. Centrifugáljuk az elegyet $300 \times g$ -n 3 percig a sejtek szétválasztásához, és óvatosan dobjuk el a maradék fagyasztóközeget tartalmazó felülúszót.
7. Óvatosan szuszpendáljuk újra a sejt pelletet 10 ml friss táptalajban. Adhezív sejtek esetében ossza a szuszpenziót két T25-ös tenyésztőlombik között; szuszpenziós kultúrák esetében az összes tápfolyadékot tegye át egy T25-ös lombikba a hatékony sejt kölcsönhatás és növekedés elősegítése érdekében.
8. A sejtvonal folyamatos növekedése és fenntartása érdekében tartsa be a megállapított szubkultúra protokollokat, biztosítva a megbízható kísérleti eredményeket.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , párasított légkör.

Flask Coating

A felolvasztás utáni optimális kötődés és életképesség érdekében **kollagénnel bevont lombikok vagy lemezek** használatát javasoljuk.

HMC3 sejtek | 300102

Freezing Procedure

A kriokonzervált sejtvonalatokat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ -on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

Shipping Conditions

A kriokonzervált sejtvonalatokat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ -on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

Storage Conditions

Hosszú távú tartósítás céljából helyezze az üvegeket gőzfázisú folyékony nitrogénbe, körülbelül -150 és $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$ közötti hőmérsékleten. A $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ -on történő tárolás csak rövid átmeneti lépésként fogadható el a folyékony nitrogénbe való átvitel előtt.

Minőségellenőrzés / Genetikai profil / HLA

Sterility

A mikoplazma-szennyeződést mind a PCR-alapú vizsgálatokkal, mind a lumineszcencia-alapú mikoplazma-kimutatási módszerekkel kizárják.

A bakteriális, gombás vagy élesztőgombás szennyeződés elkerülése érdekében a sejt kultúrákat napi vizuális ellenőrzésnek vetik alá.