Product sheet

HMC3 šūnas | 300102

Vispārīga informācija

Description	Cilvēka mikrogliju klona 3 (HMC3) šūnu līniju 1995. gadā izstrādāja profesora Tardjē komanda, izmantojot SV40 atkarīgu mikrogliju šūnu imortalizāciju no cilvēka muguras smadzeņu un galvas smadzeņu garozas audiem, kas iegūti no 8 līdz 12 nedēļu veciem embrijiem. Šīs primārās šūnas, kurām raksturīga lēna dalīšanās un sarežģīta morfoloģija, pirms imortalizācijas sākotnēji tika kultivētas 10-15 dienas. HMC3 šūnas saglabāja vairākas primārās mikroglijas galvenās pazīmes, piemēram, tādu mieloīdu marķieru kā CD68, CD11b un CD14 daudzveidīgu ekspresiju, lai gan ekspresijas līmeņi ievērojami atšķīrās atkarībā no primārās antivielas izvēles, jo īpaši CD68 gadījumā. Pēc imortalizācijas HMC3 šūnas uzrādīja paaugstinātu proliferācijas ātrumu ar dubultošanās laiku no 24 līdz 48 stundām, vienlaikus saglabājot daudzas fenotipiskās un morfoloģiskās īpašības, kas raksturīgas to primārajām šūnām. Īpaši jāatzīmē lielāks CD68 EBM/11 pozitīvo šūnu īpatsvars un fagocītiskās aktivitātes samazināšanās salīdzinājumā ar primārajām šūnām. Antigēnu ekspresijas stabilitāte tika apstiprināta 35 pasāžu laikā, šūnām saglabājoties pozitīvām attiecībā uz NSE, CD68 un CD11b, bet negatīvām attiecībā uz CD14, MHCII un CD4 bāzes apstākļos. Tomēr interferona-γ (IFNγ) iedarbība palielināja MHCII ekspresiju, kas vairāk atbilda primāro kultūru reakcijām uz to pašu apstrādi. Funkcionāli HMC3 līnija izcēlās ar augstāku interleikīna-6 (IL-6) līmeni bāzes apstākļos salīdzinājumā ar citiem kloniem. Neraugoties uz to, tiešais salīdzinājums ar primāro mikrogliālo šūnu citokīnu produkciju joprojām ir sarežģīts metodoloģisko atšķirību dēļ. Šo imortalizēto līniju reakcija uz lipopolisaharīda (LPS) stimulāciju izrādījās mazāka salīdzinājumā ar primārajām kultūrām. Atbilstoši primāro mikrogliju īpašībām HMC3 un citas klonētās līnijas nedeva audzēja nekrozes faktoru alfa (TNFα) ne spontāni, ne pēc proiekaisuma stimulācijas, uzsverot cilvēka embrionālo mikrogliju specifisku iezīmi.
Organism	Cilvēks
Tissue	Augļa smadzenes
Applications	3D šūnu kultūras, neirozinātne, neiroinflamācija
Synonyms	Cilvēka mikroglijas klons 3, CHME-3, CHME3

Raksturojums

Age	Auglis
Gender	Nav norādīts
Morphology	Makrofāgi
Cell type	Mikrogliju šūna

HMC3 šūnas | 300102

Growth properties	Adherent

Normatīvie dati

Citation	HMC3 (Cytion kataloga numurs 300102)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_II76
GMO Status	GMO-S1: Šī cilvēka augļa smadzeņu mikroglia šūnu līnija (HMC3) satur SV40 T-antgēna konstrukciju, kas ieviesta ar transfekciju, atbalstot imortalizāciju. Ievietojums ir stabili klātesošs no mikroglijas atvasinātās šūnās. Šī klasifikācija attiecas tikai uz Vāciju un var atšķirties citur.

Biomolekulārie dati

Viruses	SV40 ģenētiskais materiāls ir stabili integrēts šūnas genomā. Nav aktīvas vīrusa daļiņu ražošanas vai izdalīšanās, kas mazina iespējamās bažas par bioloģisko drošību.

Darbs ar

Culture Medium	DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/l glikozes, w: 2,5 mM L-glutamīna, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM nātrija piruvāta, w: 1,2 g/l NaHCO3 (Cytion izstrādājuma numurs 820400a)
Supplements	Papildināt barotni ar 10% FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	24 un 48 stundas
Subculturing	Noņemt veco barotni no pielipušajām šūnām un mazgāt tās ar PBS, kurā nav kalcija un magnija. T25 kolbām izmantojiet 3-5 ml PBS, bet T75 kolbām - 5-10 ml. Pēc tam pilnībā pārklājiet šūnas ar Accutase, izmantojot 1-2 ml T25 kolbām un 2,5 ml T75 kolbām. Ļaujiet šūnām inkubēties istabas temperatūrā 8-10 minūtes, lai tās atdalītos. Pēc inkubācijas uzmanīgi samaisiet šūnas ar 10 ml barotnes, lai tās atkārtoti suspendētu, pēc tam centrifugējiet 3 minūtes ar 300xg. Izmetiet supernatantu, atkārtoti suspendējiet šūnas svaigā barotnē un pārvietojiet tās jaunās kolbās, kurās jau ir svaiga barotne.

HMC3 šūnas | 300102

Freeze medium	Kā kriokonservēšanas barotni mēs izmantojam pilnvērtīgu augšanas barotni (ieskaitot FBS) + 10 % DMSO, lai nodrošinātu pietiekamu dzīvotspēju pēc atkausēšanas, vai CM-1 (Cytion kataloga numurs 800100), kas ietver optimizētus osmoprotektorus un metaboliskos stabilizatorus, lai uzlabotu atveseļošanos un samazinātu krioinducēto stresu.
Thawing and Culturing Cells	1. Pārliecinieties, ka pēc piegādes flakons paliek dziļi sasaldēts, jo šūnas tiek sūtītas uz sausā ledus, lai pārvadāšanas laikā saglabātu optimālu temperatūru. 2. Pēc saņemšanas vai nu nekavējoties uzglabāt kriovialu temperatūrā, kas zemāka par -150 °C, lai nodrošinātu šūnu integritātes saglabāšanu, vai arī turpināt 3. posmu, ja nepieciešama tūlītēja kultivēšana. 3. Tūlītējas kultivēšanas gadījumā ātri atkausējiet flakonu, iegremdējot to 37°C ūdens vannā ar tīru ūdeni un antibakteriālu līdzekli, viegli maisot 40-60 sekundes, līdz paliek neliels ledus gabaliņš. 4. Visas turpmākās darbības veiciet sterilos apstākļos plūsmas nosūcējā, pirms atvēršanas dezinficējot kriovialu ar 70% etanolu. 5. Uzmanīgi atveriet dezinficēto flakonu un pārnesiet šūnu suspensiju 15 ml centrifūgas mēģenē, kurā ir 8 ml istabas temperatūras barotnes, uzmanīgi samaisot. 6. Centrifugējiet maisījumu ar 300 x g 3 minūtes, lai atdalītu šūnas, un uzmanīgi izmetiet virskārtu, kas satur saldēšanas barotnes atlikumus. 7. Viegli resuspendēt šūnu granulas 10 ml svaigas barotnes. Adhēzijas šūnu gadījumā suspensiju sadalīt divās T25 kolbās; suspensijas kultūrām visu barotni pārnest vienā T25 kolbā, lai veicinātu efektīvu šūnu mijiedarbību un augšanu. 8. Ievērojiet noteiktos subkultūru protokolus, lai nodrošinātu nepārtrauktu šūnu līnijas augšanu un uzturēšanu, tādējādi nodrošinot uzticamus eksperimentu rezultātus.
Incubation Atmosphere	37°C, 5%$_{CO2}$, mitrināta atmosfēra.
Flask Coating	Neviens
Freezing Procedure	Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidruma daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

HMC3 šūnas | 300102

Shipping Conditions	Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidruma daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.
Storage Conditions	Ilgstošai uzglabāšanai flakonus ievietojiet šķidrā slāpeklī ar tvaika fāzi aptuveni -150 līdz -196 °C temperatūrā. Uzglabāšana -80 °C temperatūrā ir pieļaujama tikai kā īss starpposms pirms pārvietošanas uz šķidro slāpekli.

Kvalitātes kontrole un molekulārā analīze

Sterility	Mikoplazmas piesārņojums tiek izslēgts, izmantojot gan uz PCR balstītus testus, gan uz luminiscenci balstītas mikoplazmas noteikšanas metodes. Lai pārliecinātos, ka nav baktēriju, sēnīšu vai rauga piesārņojuma, šūnu kultūras katru dienu vizuāli pārbauda.