

HMC3-celler | 300102

Generell informasjon

Description

Cellelinjen Human Microglial Clone 3 (HMC3) ble utviklet i 1995 av professor Tardieu's team gjennom SV40-avhengig udødeliggjøring av mikroglia-celler fra humant ryggmargs- og kortikalt vev, hentet fra embryoer som var mellom 8 og 12 uker gamle. Disse primære cellene, som kjennetegnes av langsom deling og komplekse morfologier, ble først dyrket i 10-15 dager før udødeliggjøring. HMC3-cellene beholdt flere av de viktigste kjennetegnene ved primære mikroglia-celler, for eksempel et mangfoldig uttrykk av myeloide markører som CD68, CD11b og CD14, selv om uttrykksnivåene varierte betydelig med valget av primært antistoff, særlig for CD68.

Etter udødeliggjøring viste HMC3-cellene økt proliferasjonshastighet, med doblingstider på mellom 24 og 48 timer, samtidig som de bevarte mange av de fenotypiske og morfologiske egenskapene til sine primære motparter. Spesielt var det en høyere andel CD68 EBM/11-positive celler og en reduksjon i fagocytisk aktivitet sammenlignet med de primære cellene. Stabiliteten i antigenuttrykket ble bekreftet over 35 passeringer, der cellene forble positive for NSE, CD68 og CD11b, men negative for CD14, MHCII og CD4 under baselinebetingelser. Eksponering for interferon- γ (IFN γ) økte imidlertid MHCII-uttrykket, noe som samsvarer bedre med primærkulturens respons på den samme behandlingen.

Funksjonelt skilte HMC3-linjen seg ut ved å produsere høyere nivåer av interleukin-6 (IL-6) under basale forhold sammenlignet med andre kloner. Til tross for dette er en direkte sammenligning med primære mikroglia-cellers cytokinproduksjon fortsatt utfordrende på grunn av metodologiske forskjeller. Responsen på lipopolysakkarid (LPS)-stimulering i disse udødeliggjorte linjene så ut til å være redusert i forhold til primærkulturer. I tråd med primære mikroglia-cellers egenskaper produserte HMC3 og andre klonede linjer ikke tumornekrosefaktor-alfa (TNF α), verken spontant eller etter proinflammatorisk stimulering, noe som fremhever et spesifikt trekk ved humane embryonale mikroglia.

Organism

Menneskelig

Tissue

Fosterets hjerne

Applications

3D-cellekultur, nevrovitenskap, nevroinflammasjon

Synonyms

Human mikroglia klon 3, CHME-3, CHME3

Kjennetegn

Age

Foster

Gender

Uspesifisert

Morphology

Makrofag

Cell type

Mikroglia-celle

HMC3-celler | 300102

Growth properties Vedhengende

Regulatoriske data

Citation HMC3 (Cytion-katalognummer 300102)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_I176

GMO Status GMO-S1: Denne humane føtale hjernemikroglia-cellelinjen (HMC3) inneholder en SV40 T-antigenkonstruksjon som er introdusert ved transfeksjon, og som støtter udødeliggjøring. Innsettet er stabilt til stede i mikroglia-avledede celler. Denne klassifiseringen gjelder bare i Tyskland og kan variere andre steder.

Biomolekylære data

Viruses SV40s genetiske materiale er stabilt integrert i cellegenomet. Det foregår ingen aktiv produksjon eller frigjøring av komplette viruspartikler, noe som reduserer potensielle biosikkerhetsproblemer.

Håndtering

Culture Medium DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/L glukose, w: 2,5 mM L-glutamin, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM natriumpyruvat, w: 1,2 g/L NaHCO₃ (Cytion artikkelnummer 820400a)

Supplements Suppler mediet med 10 % FBS

Dissociation Reagent Accutase

Doubling time 24 og 48 timer

Subculturing Fjern det gamle mediet fra de adherente cellene, og vask dem med PBS uten kalsium og magnesium. Bruk 3-5 ml PBS for T25-kolber og 5-10 ml for T75-kolber. Dekk deretter cellene helt med Accutase, med 1-2 ml for T25-kolber og 2,5 ml for T75-kolber. La cellene inkubere i romtemperatur i 8-10 minutter for å løsne dem. Etter inkubasjon blandes cellene forsiktig med 10 ml medium for å resuspendere dem, og sentrifuger deretter ved 300xg i 3 minutter. Kast supernatanten, resuspendere cellene i nytt medium, og overfør dem til nye kolber som allerede inneholder nytt medium.

HMC3-celler | 300102

Freeze medium

Som kryopreserveringsmedium bruker vi komplett vekstmedium (inkludert FBS) + 10 % DMSO for tilstrekkelig levedyktighet etter opptining, eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som inneholder optimaliserte osmobeskyttende midler og metabolske stabilisatorer for å øke utvinningen og redusere kryoundusert stress.

Thawing and Culturing Cells

1. Kontroller at hetteglasset er dypfryst ved levering, ettersom cellene sendes på tørris for å opprettholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved mottak skal hetteglasset enten oppbevares umiddelbart ved temperaturer under $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ for å sikre at cellenes integritet bevares, eller gå videre til trinn 3 hvis umiddelbar dyrking er nødvendig.
3. Ved umiddelbar dyrking tiner du hetteglasset raskt ved å senke det ned i et $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ varmt vannbad med rent vann og et antimikrobielt middel, og røre forsiktig i 40-60 sekunder til det blir en liten isklump igjen.
4. Utfør alle påfølgende trinn under sterile forhold i en strømningshette, og desinfiser kryoflasken med 70 % etanol før du åpner den.
5. Åpne det desinfiserte hetteglasset forsiktig, og overfør cellesuspensjonen til et 15 ml sentrifugerør som inneholder 8 ml romtemperert dyrkingsmedium, og bland forsiktig.
6. Sentrifuger blandingen ved $300 \times g$ i 3 minutter for å separere cellene, og kast supernatanten som inneholder rester av frysemedium, forsiktig.
7. Resuspender cellepelletten forsiktig i 10 ml nytt dyrkningsmedium. For adherente celler, del suspensjonen mellom to T25-kulturkolber; for suspensjonskulturer, overfør alt mediet til én T25-kolbe for å fremme effektiv celleinteraksjon og vekst.
8. Følg etablerte subkulturprotokoller for fortsatt vekst og vedlikehold av cellelinjen, noe som sikrer pålitelige eksperimentelle resultater.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5 % CO_2 , befuktet atmosfære.

Flask Coating

Ingen

Freezing Procedure

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca. $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

HMC3-celler | 300102

Shipping Conditions

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca. -78 °C under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

Storage Conditions

For langtidsoppbevaring plasseres hetteglassene i flytende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Lagring ved -80 °C er kun akseptabelt som et kort mellomtrinn før overføring til flytende nitrogen.

Kvalitetskontroll / Genetisk profil / HLA

Sterility

Mykoplasma-kontaminering utelukkes ved hjelp av både PCR-baserte analyser og luminescensbaserte metoder for påvisning av mykoplasma.

For å sikre at det ikke finnes bakterie-, sopp- eller gjærkontaminering, blir cellekulturene inspisert visuelt hver dag.

STR-profil

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