

Komórki HMC3 | 300102

Informacje ogólne

Description

Linia komórkowa Human Microglial Clone 3 (HMC3) została opracowana w 1995 roku przez zespół profesora Tardieu poprzez zależną od SV40 immortalizację komórek mikrogleju z ludzkiego rdzenia kręgowego i tkanek korowych, uzyskanych z zarodków w wieku od 8 do 12 tygodni. Te pierwotne komórki, charakteryzujące się powolnym podziałem i złożoną morfologią, były początkowo hodowane przez 10-15 dni przed immortalizacją. Komórki HMC3 zachowały kilka kluczowych cech pierwotnych mikrogleju, takich jak zróżnicowana ekspresja markerów szpikowych, takich jak CD68, CD11b i CD14, chociaż poziomy ekspresji różniły się znacznie w zależności od wyboru pierwotnego przeciwciała, szczególnie dla CD68.

Po immortalizacji komórki HMC3 wykazywały zwiększone tempo proliferacji, z czasem podwojenia między 24 a 48 godzin, zachowując jednocześnie wiele cech fenotypowych i morfologicznych swoich pierwotnych odpowiedników. W szczególności, stwierdzono wyższy odsetek komórek CD68 EBM/11-dodatnich i zmniejszenie aktywności fagocytarnej w porównaniu do komórek pierwotnych. Stabilność ekspresji antygenowej została potwierdzona w 35 pasażach, przy czym komórki pozostały dodatnie dla NSE, CD68 i CD11b, ale ujemne dla CD14, MHCII i CD4 w warunkach wyjściowych. Jednak ekspozycja na interferon- γ (IFN γ) zwiększyła ekspresję MHCII, co jest bardziej zbliżone do odpowiedzi hodowli pierwotnej na to samo leczenie.

Funkcjonalnie, linia HMC3 wyróżniła się wytwarzaniem wyższych poziomów interleukiny-6 (IL-6) w warunkach podstawowych w porównaniu do innych klonów. Pomimo tego, bezpośrednie porównanie z produkcją cytokin przez pierwotne komórki mikrogleju pozostaje trudne ze względu na różnice metodologiczne. Odpowiedź na stymulację lipopolisacharydem (LPS) w tych unieśmiertelnionych liniach wydawała się zmniejszona w porównaniu z kulturami pierwotnymi. Zgodnie z pierwotnymi cechami mikrogleju, HMC3 i inne sklonowane linie nie wytwarzały czynnika martwicy nowotworów alfa (TNF α), ani spontanicznie, ani po stymulacji prozapalnej, podkreślając specyficzną cechę ludzkich mikrogleju embrionalnego.

Organism Człowiek

Tissue Mózg płodu

Applications hodowla komórkowa 3D, neuronauka, neuroinflamacja

Synonyms Ludzki klon mikrogleju 3, CHME-3, CHME3

Charakterystyka

Age Płód

Gender Nieokreślony

Morphology Makrofag

Cell type Komórka mikrogleju

Komórki HMC3 | 300102

Growth properties Adherent

Dane regulacyjne

Citation HMC3 (numer katalogowy Cytion 300102)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_I176

GMO Status GMO-S1: Ta linia komórek mikrogleju ludzkiego mózgu płodu (HMC3) zawiera konstrukt antygeny SV40 T wprowadzony przez transfekcję, wspomagający immortalizację. Wstawka jest stabilnie obecna w komórkach pochodzących z mikrogleju. Ta klasyfikacja ma zastosowanie tylko w Niemczech i może się różnić w innych krajach.

Dane biomolekularne

Viruses Materiał genetyczny SV40 jest stabilnie zintegrowany z genomem komórki. Nie ma aktywnej produkcji ani uwalniania kompletnych cząstek wirusa, co zmniejsza potencjalne obawy związane z bezpieczeństwem biologicznym.

Obsługa

Culture Medium DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/l glukozy, w: 2,5 mM L-glutaminy, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM pirogronianu sodu, w: 1,2 g/l NaHCO₃ (numer artykułu Cytion 820400a)

Supplements Uzupelnic podloze 10% FBS

Dissociation Reagent Accutase

Doubling time 24 i 48 godzin

Subculturing Usuń starą pożywkę z przylegających komórek i przemyj je PBS, który nie zawiera wapnia i magnezu. W przypadku kolb T25 należy użyć 3-5 ml PBS, a w przypadku kolb T75 5-10 ml. Następnie całkowicie pokryj komórki Accutase, używając 1-2 ml dla kolb T25 i 2,5 ml dla kolb T75. Pozwól komórkom inkubować w temperaturze pokojowej przez 8-10 minut, aby je oddzielić. Po inkubacji delikatnie wymieszaj komórki z 10 ml pożywki, aby ponownie je zawiesić, a następnie odwiruj przy 300xg przez 3 minuty. Odrzucić supernatant, ponownie zawiesić komórki w świeżej pożywce i przenieść je do nowych kolb zawierających już świeżą pożywkę.

Komórki HMC3 | 300102**Freeze medium**

Jako pożywki do kriokonserwacji używamy kompletnej pożywki wzrostowej (w tym FBS) + 10% DMSO w celu zapewnienia odpowiedniej żywotności po rozmrożeniu lub CM-1 (numer katalogowy Cytion 800100), która zawiera zoptymalizowane osmoprotektanty i stabilizatory metaboliczne w celu zwiększenia regeneracji i zmniejszenia stresu wywołanego kriokonserwacją.

Thawing and Culturing Cells

1. Upewnij się, że fiolka pozostaje głęboko zamrożona w momencie dostawy, ponieważ komórki są wysyłane w suchym lodzie, aby utrzymać optymalną temperaturę podczas transportu.
2. Po otrzymaniu należy natychmiast przechowywać fiolkę w temperaturze poniżej -150°C , aby zapewnić zachowanie integralności komórek, lub przejść do kroku 3, jeśli wymagana jest natychmiastowa hodowla.
3. W przypadku natychmiastowej hodowli należy szybko rozmrozić fiolkę, zanurzając ją w łaźni wodnej o temperaturze 37°C z czystą wodą i środkiem przeciwdrobnoustrojowym, delikatnie mieszając przez 40-60 sekund, aż pozostanie niewielka grudka lodu.
4. Wykonaj wszystkie kolejne kroki w sterylnych warunkach w kapturze przepływowej, dezynfekując fiolkę 70% etanolem przed otwarciem.
5. Ostrożnie otworzyć zdezynfekowaną fiolkę i przenieść zawiesinę komórek do 15 ml probówki wirówkowej zawierającej 8 ml podłoża hodowlanego o temperaturze pokojowej, delikatnie mieszając.
6. Wirować mieszaninę z prędkością $300 \times g$ przez 3 minuty w celu oddzielenia komórek i ostrożnie odrzucić supernatant zawierający pozostałości pożywki do zamrażania.
7. Delikatnie ponownie zawiesić osad komórek w 10 ml świeżego podłoża hodowlanego. W przypadku komórek przylegających, rozdzielić zawiesinę pomiędzy dwie kolby hodowlane T25; w przypadku hodowli zawiesinowych, przenieść całą pożywkę do jednej kolby T25 w celu promowania skutecznej interakcji i wzrostu komórek.
8. Przestrzegaj ustalonych protokołów podhodowli w celu ciągłego wzrostu i utrzymania linii komórkowej, zapewniając wiarygodne wyniki eksperymentów.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , nawilżona atmosfera.

Flask Coating

Brak

Komórki HMC3 | 300102**Freezing Procedure**

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiołki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Shipping Conditions

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiołki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Storage Conditions

W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiołki w ciekłym azocie w fazie lotnej w temperaturze od -150 do -196 °C. Przechowywanie w temperaturze -80 °C jest dopuszczalne tylko jako krótki etap przejściowy przed przeniesieniem do ciekłego azotu.

Kontrola jakości / Profil genetyczny / HLA**Sterility**

Zanieczyszczenie mykoplazmą jest wykluczone przy użyciu zarówno testów opartych na PCR, jak i metod wykrywania mykoplazmy opartych na luminescencji.

Aby upewnić się, że nie ma zanieczyszczenia bakteriami, grzybami lub drożdżami, hodowle komórkowe są poddawane codziennym kontrolom wizualnym.

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