

Celice HMC3 | 300102

Splošne informacije

Description

Celično linijo Human Microglial Clone 3 (HMC3) je leta 1995 razvila ekipa profesorja Tardieuja z imortalizacijo mikroglijskih celic iz človeških tkiv hrbtnjače in skorje, pridobljenih iz zarodkov, starih od 8 do 12 tednov, v odvisnosti od SV40. Te primarne celice, za katere je značilna počasna delitev in kompleksna morfolologija, so bile pred imortalizacijo najprej gojene 10-15 dni. Celice HMC3 so ohranile več ključnih značilnosti primarnih mikroglijev, kot je raznoliko izražanje mieloidnih označevalcev, kot so CD68, CD11b in CD14, čeprav so se ravni izražanja zelo razlikovale glede na izbiro primarnega protitelesa, zlasti za CD68.

Po imortalizaciji so celice HMC3 pokazale večjo stopnjo proliferacije, pri čemer se je čas podvojitve gibal med 24 in 48 urami, hkrati pa so ohranile številne fenotipske in morfološke značilnosti svojih primarnih kolegov. V primerjavi s primarnimi celicami je bil delež celic, pozitivnih na CD68 EBM/11, večji, fagocitna aktivnost pa manjša. Stabilnost antigeneskega izražanja je bila potrjena v 35 prehodih, pri čemer so celice ostale pozitivne za NSE, CD68 in CD11b, vendar negativne za CD14, MHCII in CD4 v osnovnih pogojih. Vendar je izpostavljenost interferonu- γ (IFN γ) povečala izražanje MHCII, kar se bolj ujema z odzivi primarnih kultur na isto zdravljenje.

Funkcionalno se je linija HMC3 razlikovala po tem, da je v primerjavi z drugimi kloni v osnovnih pogojih proizvajala višje ravni interleukina-6 (IL-6). Kljub temu je neposredna primerjava s proizvodnjo citokinov v primarnih mikroglijskih celicah zaradi metodoloških razlik še vedno težavna. Odziv na stimulacijo z lipopolisaharidom (LPS) v teh imortaliziranih linijah je bil v primerjavi s primarnimi kulturami manjši. V skladu z značilnostmi primarnih mikroglij HMC3 in druge klonirane linije niso proizvajale tumorskega nekroznega faktorja alfa (TNF α) niti spontano niti po pro-vnetni stimulaciji, kar poudarja posebno lastnost človeških embrionalnih mikroglij.

Organism	Človek
Tissue	Plodovi možgani
Applications	3D celična kultura, nevroznanost, nevroinflamacija
Synonyms	Klon 3 človeških mikroglijev, CHME-3, CHME3

Značilnosti

Age	Plod
Gender	Neopredeljeno
Morphology	Makrofagi
Cell type	Mikroglijska celica
Growth properties	Pripadajoče

Celice HMC3 | 300102

Regulativni podatki

Citation	HMC3 (katalogška številka Cytion 300102)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_I176
GMO Status	GMO-S1: Ta celična linija mikroglije človeških fetalnih možganov (HMC3) vsebuje konstrukt SV40 T-Antigen, vnesen s transfekcijo, ki podpira imortalizacijo. Vstavek je stabilno prisoten v celicah, ki izvirajo iz mikroglije. Ta razvrstitev velja samo v Nemčiji in se lahko drugje razlikuje.

Biomolekularni podatki

Viruses	Genetski material SV40 je stabilno integriran v genom celice. Pri tem ne prihaja do aktivne proizvodnje ali sproščanja popolnih virusnih delcev, kar zmanjšuje morebitne pomisleke glede biološke varnosti.
----------------	---

Ravnanje s spletno stranjo

Culture Medium	DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/L glukoze, w: 2,5 mM L-glutamina, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM natrijevega piruvata, w: 1,2 g/L NaHCO ₃ (številka izdelka Cytion 820400a)
Supplements	Gojišče dopolnite z 10 % FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	24 in 48 ur
Subculturing	Odstranite staro gojišče z adherentnih celic in jih sperite s PBS, ki ne vsebuje kalcija in magnezija. Za bučke T25 uporabite 3-5 ml PBS, za bučke T75 pa 5-10 ml. Nato celice popolnoma prekrijte z Accutase, pri čemer uporabite 1-2 ml za bučke T25 in 2,5 ml za bučke T75. Celice pustite inkubirati pri sobni temperaturi 8-10 minut, da se ločijo. Po inkubaciji celice nežno premešajte z 10 ml gojišča, da se ponovno suspendirajo, nato jih 3 minute centrifugirajte pri 300xg. Zavržite supernatant, ponovno suspendirajte celice v svežem gojišču in jih prenesite v nove bučke, ki že vsebujejo sveže gojišče.
Freeze medium	Kot gojišče za kriokonzervacijo uporabljamo popolno rastno gojišče (vključno s FBS) + 10 % DMSO za ustrezno vitalnost po odmrznitvi ali CM-1 (katalogška številka 800100 podjetja Cytion), ki vključuje optimizirane osmoprotektante in presnovne stabilizatorje za izboljšanje okrevanja in zmanjšanje stresa, povzročene s kriom.

Celice HMC3 | 300102

Thawing and Culturing Cells

1. Prepričajte se, da je viala ob dostavi globoko zamrznjena, saj se celice pošiljajo na suhem ledu, da se med prevozom ohranijo optimalne temperature.
2. Po prejemu krioviala takoj shranite pri temperaturi pod $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, da zagotovite ohranitev celične celovitosti, ali pa nadaljujte s korakom 3, če je potrebno takojšnje gojenje.
3. Za takojšnje gojenje vialo hitro odtalite tako, da jo potopite v vodno kopel s čisto vodo in protimikrobnim sredstvom pri $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ ter 40-60 sekund nežno mešate, dokler ne ostane majhen ledeni kepica.
4. Vse nadaljnje korake izvajajte v sterilnih pogojih v pretočni nape, pred odprtjem pa kriovial razkužite s 70 % etanolom.
5. Previdno odprite razkuženo vialo in celično suspenzijo prenesite v 15-mililitrsko centrifugirno epruveto, ki vsebuje 8 ml gojišča sobne temperature, ter nežno premešajte.
6. Mešanico centrifugirajte pri $300 \times g$ 3 minute, da ločite celice, in previdno zavržite supernatant, ki vsebuje ostanke zamrzovalnega gojišča.
7. Pelet celic nežno ponovno suspendirajte v 10 ml svežega gojišča. Pri adherentnih celicah suspenzijo razdelite med dve bučki T25; pri suspenzijskih kulturah prenesite vse gojišče v eno bučko T25, da spodbudite učinkovito interakcijo in rast celic.
8. Upoštevajte uveljavljene protokole subkultur za nadaljnjo rast in vzdrževanje celične linije ter tako zagotovite zanesljive rezultate poskusov.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5 % CO_2 , vlažno ozračje.

Flask Coating

Za optimalno pritrnitev in sposobnost preživetja po odmrznitvi priporočamo uporabo s **kolagenom prevlečenih bučk ali plošč**.

Freezing Procedure

Kriokonzervirane celične linije se pošiljajo na suhem ledu v potrjeni, izolirani embalaži z zadostno količino hladilnega sredstva, da se med prevozom vzdržuje približno $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Ob prejemu takoj preglejte embalažo in vialo nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.

Celice HMC3 | 300102

Shipping Conditions

Kriokonzervirane celične linije se pošiljajo na suhem ledu v potrjeni, izolirani embalaži z zadostno količino hladilnega sredstva, da se med prevozom vzdržuje približno -78°C . Ob prejemu takoj preglejte embalažo in vialo nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.

Storage Conditions

Za dolgotrajno shranjevanje vialo postavite v tekoči dušik v parni fazi pri približno -150 do -196°C . Shranjevanje pri -80°C je sprejemljivo le kot kratek vmesni korak pred prenosom v tekoči dušik.

Nadzor kakovosti / Genetski profil / HLA

Sterility

Kontaminacija z mikoplazmo se izključi z uporabo testov na podlagi PCR in metod za odkrivanje mikoplazme na podlagi luminiscence.

Da se zagotovi, da ni kontaminacije z bakterijami, glivami ali kvasovkami, se celične kulture dnevno vizualno pregledujejo.