

HMC3 Hücreleri | 300102

Genel bilgi

Description

Human Microglial Clone 3 (HMC3) hücre hattı 1995 yılında Profesör Tardieu'nun ekibi tarafından, 8 ila 12 haftalık embriyolardan elde edilen insan omurilik ve kortikal dokularından alınan mikroglial hücrelerin SV40'a bağlı olarak ölümsüzleştirilmesi yoluyla geliştirilmiştir. Yavaş bölünme ve karmaşık morfolojilerle karakterize edilen bu birincil hücreler, ölümsüzleştirilmeden önce başlangıçta 10-15 gün boyunca kültürlendi. HMC3 hücreleri, CD68, CD11b ve CD14 gibi miyeloid belirteçlerin çeşitli ekspresyonu gibi primer mikrogliaların birkaç temel özelliğini korumuştur, ancak ekspresyon seviyeleri, özellikle CD68 için primer antikor seçimine göre önemli ölçüde değişmiştir.

İmmortalizasyonun ardından HMC3 hücreleri, birincil muadillerinin birçok fenotipik ve morfolojik özelliğini korurken, 24 ila 48 saat arasında iki katına çıkma süreleriyle gelişmiş proliferasyon oranları sergilemiştir. Özellikle, CD68 EBM/11-pozitif hücrelerin oranı daha yüksekti ve birincil hücrelere kıyasla fagositik aktivitede bir azalma vardı. Antijenik ifadedeki kararlılık 35 pasaj boyunca doğrulanmış, hücreler NSE, CD68 ve CD11b için pozitif kalırken, temel koşullar altında CD14, MHCII ve CD4 için negatif olmuştur. Bununla birlikte, interferon- γ (IFN γ) maruz kalma MHCII ifadesini yükselterek aynı tedaviye verilen birincil kültür yanıtlarıyla daha yakın bir uyum sağlamıştır.

İşlevsel olarak, HMC3 hattı diğer klonlara kıyasla bazal koşullar altında daha yüksek seviyelerde interlökin-6 (IL-6) üretmek kendini göstermiştir. Buna rağmen, metodolojik farklılıklar nedeniyle birincil mikroglial hücrelerin sitokin üretimiyle doğrudan bir karşılaştırma yapmak zor olmaya devam etmektedir. Bu ölümsüzleştirilmiş hatlarda lipopolisakkarit (LPS) uyarımına verilen yanıt birincil kültürlerle göre azalmış görünmektedir. Birincil mikroglial özelliklerle tutarlı olarak, HMC3 ve diğer klonlanmış hatlar, ne kendiliğinden ne de pro-inflamatuar stimülasyonun ardından tümör nekroz faktörü-alfa (TNF α) üretmemiş ve insan embriyonik mikroglialarının spesifik bir özelliğini vurgulamıştır.

Organism İnsan

Tissue Fetal beyin

Applications 3D hücre kültürü, Sinirbilim, Nöroinflamasyon

Synonyms İnsan Mikroglia Klon 3, CHME-3, CHME3

Özellikler

Age Fetüs

Gender Belirtilmemiş

Morphology Makrofaj

Cell type Mikroglial hücre

HMC3 Hücreleri | 300102

Growth properties Yapışık

Düzenleyici Veriler

Citation HMC3 (Cytion katalog numarası 300102)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_I176

GMO Status GMO-S1: Bu insan fetal beyin mikrogliya hücre hattı (HMC3), ölümsüzleştirmeyi destekleyen transfeksiyon yoluyla eklenen bir SV40 T-Antigen yapısı içerir. Ek parça, mikrogliya türevi hücrelerde stabil olarak mevcuttur. Bu sınıflandırma sadece Almanya içinde geçerlidir ve başka yerlerde farklılık gösterebilir.

Biyomoleküler Veriler

Viruses SV40 genetik materyali hücre genomuna stabil bir şekilde entegre edilir. Tam viral partiküllerin aktif üretimi veya salınımı söz konusu değildir, bu da potansiyel biyogüvenlik endişelerini azaltır.

Elleçleme

Culture Medium DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3.1 g/L Glukoz, w: 2.5 mM L-Glutamin, w: 15 mM HEPES, w: 0.5 mM Sodyum piruvat, w: 1.2 g/L NaHCO₃ (Cytion makale numarası 820400a)

Supplements Ortamı %10 FBS ile takviye edin

Dissociation Reagent Accutase

Doubling time 24 ve 48 saat

Subculturing Yapışık hücrelerden eski ortamı çıkarın ve kalsiyum ve magnezyum içermeyen PBS ile yıkayın. T25 şişeleri için 3-5 ml PBS ve T75 şişeleri için 5-10 ml kullanın. Ardından, T25 flasklar için 1-2 ml ve T75 flasklar için 2,5 ml kullanarak hücreleri Accutase ile tamamen kaplayın. Hücreleri ayırmak için oda sıcaklığında 8-10 dakika inkübasyona bırakın. İnkübasyondan sonra, hücreleri yeniden süspanse etmek için 10 ml besiyeriyle hafifçe karıştırın, ardından 300xg'de 3 dakika santrifüjleyin. Süpernatantı atın, hücreleri taze besiyerinde yeniden süspanse edin ve zaten taze besiyeri içeren yeni şişelere aktarın.

HMC3 Hücreleri | 300102**Freeze medium**

Kriyoprezervasyon ortamı olarak, yeterli çözülme sonrası canlılık için tam büyüme ortamı (FBS dahil) + %10 DMSO veya iyileşmeyi artırmak ve kriyo-indüklenmiş stresi azaltmak için optimize edilmiş ozmoprotektanlar ve metabolik stabilizatörler içeren CM-1 (Cytion katalog numarası 800100) kullanıyoruz.

Thawing and Culturing Cells

1. Hücreler taşıma sırasında optimum sıcaklıkları korumak için kuru buz üzerinde gönderildiğinden, flakonun teslimat sırasında derin dondurulmuş halde kaldığını teyit edin.
2. Teslim aldıktan sonra, hücresel bütünlüğün korunmasını sağlamak için kriyovialı hemen -150°C'nin altındaki sıcaklıklarda saklayın veya hemen kültürleme gerekiyorsa 3. adıma geçin.
3. Derhal kültürleme için flakonu temiz su ve antimikrobiyal bir madde içeren 37°C'lik bir su banyosuna daldırıp küçük bir buz kümesi kalana kadar 40-60 saniye boyunca hafifçe çalkalayarak hızlıca çözün.
4. Sonraki tüm adımları steril koşullar altında bir akış başlığı içinde gerçekleştirin ve açmadan önce kriyovialleri %70 etanol ile dezenfekte edin.
5. Dezenfekte edilmiş flakonu dikkatlice açın ve hücre süspansiyonunu 8 ml oda sıcaklığında kültür ortamı içeren 15 ml'lik bir santrifüj tüpüne aktarın ve hafifçe karıştırın.
6. Hücreleri ayırmak için karışımı 300 x g'de 3 dakika santrifüjleyin ve artık dondurma ortamı içeren süpernatantı dikkatlice atın.
7. Hücre peletini 10 ml taze kültür ortamında yavaşça yeniden süspanse edin. Yapışık hücreler için, süspansiyonu iki T25 kültür şişesi arasında bölün; süspansiyon kültürleri için, etkili hücre etkileşimini ve büyümesini teşvik etmek üzere tüm ortamı tek bir T25 şişesine aktarın.
8. Hücre hattının sürekli büyümesi ve bakımı için belirlenmiş alt kültür protokollerine uyun ve güvenilir deneysel sonuçlar elde edin.

Incubation Atmosphere

37°C, %5_{CO2}, nemlendirilmiş atmosfer.

Flask Coating

Yok

Freezing Procedure

Kriyoprezerve edilmiş hücre hatları, nakliye boyunca yaklaşık -78 °C'yi korumak için yeterli soğutucu akışkan içeren, onaylanmış, yalıtılmış ambalajlarda kuru buz üzerinde gönderilir. Teslim aldığınızda, kabı hemen inceleyin ve flakonları gecikmeden uygun depoya aktarın.

HMC3 Hücreleri | 300102

Shipping Conditions

Kriyoprezerve edilmiş hücre hatları, nakliye boyunca yaklaşık -78 °C'yi korumak için yeterli soğutucu akışkan içeren, onaylanmış, yalıtılmış ambalajlarda kuru buz üzerinde gönderilir. Teslim aldığınızda, kabı hemen inceleyin ve flakonları gecikmeden uygun depoya aktarın.

Storage Conditions

Uzun süreli muhafaza için flakonları yaklaşık -150 ila -196 °C'de buhar fazlı sıvı nitrojen içine yerleştirin. 80 °C'de saklama yalnızca sıvı nitrojene aktarılmadan önce kısa bir ara adım olarak kabul edilebilir.

Kalite kontrol / Genetik profil / HLA

Sterility

Mikoplazma kontaminasyonu hem PCR tabanlı tahliller hem de lüminesans tabanlı mikoplazma tespit yöntemleri kullanılarak dışlanır.

Bakteriyel, fungal veya maya kontaminasyonu olmadığından emin olmak için hücre kültürleri günlük görsel incelemelere tabi tutulur.