

Tế bào HMC3 | 300102

Thông tin chung

Description

Dòng tế bào Human Microglial Clone 3 (HMC3) được phát triển vào năm 1995 bởi nhóm nghiên cứu của Giáo sư Tardieu thông qua quá trình bất tử hóa phụ thuộc vào SV40 của các tế bào microglia từ mô tủy sống và vỏ não của người, được thu thập từ phôi thai có tuổi từ 8 đến 12 tuần. Các tế bào nguyên phát này, có đặc điểm là phân chia chậm và hình thái phức tạp, ban đầu được nuôi cấy trong 10-15 ngày trước khi tiến hành bất tử hóa. Các tế bào HMC3 duy trì nhiều đặc điểm quan trọng của tế bào microglia nguyên thủy, chẳng hạn như biểu hiện đa dạng của các dấu hiệu miễn dịch như CD68, CD11b và CD14, mặc dù mức độ biểu hiện thay đổi đáng kể tùy thuộc vào loại kháng thể nguyên thủy được sử dụng, đặc biệt là đối với CD68.

Sau khi bất tử hóa, các tế bào HMC3 thể hiện tốc độ phân chia tăng cao, với thời gian nhân đôi từ 24 đến 48 giờ, đồng thời duy trì nhiều đặc điểm hình thái và biểu hiện kiểu hình của các tế bào nguyên phát. Đáng chú ý, tỷ lệ tế bào dương tính với CD68 EBM/11 cao hơn và hoạt động thực bào giảm so với các tế bào nguyên phát. Sự ổn định trong biểu hiện kháng nguyên được xác nhận qua 35 lần truyền, với các tế bào vẫn dương tính với NSE, CD68 và CD11b, nhưng âm tính với CD14, MHCII và CD4 trong điều kiện cơ bản. Tuy nhiên, tiếp xúc với interferon- γ (IFN γ) làm tăng biểu hiện MHCII, tương đồng hơn với phản ứng của văn hóa nguyên phát đối với cùng liệu pháp.

Về mặt chức năng, dòng HMC3 nổi bật với việc sản xuất mức độ cao hơn của interleukin-6 (IL-6) dưới điều kiện cơ bản so với các dòng khác. Tuy nhiên, so sánh trực tiếp với sản xuất cytokine của tế bào microglia nguyên phát vẫn gặp khó khăn do sự khác biệt về phương pháp. Phản ứng với kích thích lipopolysaccharide (LPS) trong các dòng bất tử này dường như giảm so với văn hóa nguyên phát. Tương tự như đặc điểm của tế bào microglia nguyên phát, dòng HMC3 và các dòng được nhân bản khác không sản xuất yếu tố hoại tử khối u alpha (TNF α), dù là tự nhiên hay sau khi kích thích viêm, nhấn mạnh một đặc điểm cụ thể của tế bào microglia phôi người.

Organism Con người

Tissue Não thai nhi

Applications văn hóa tế bào 3D, Khoa học thần kinh, Viêm thần kinh

Synonyms Tế bào vi mô não người dòng 3, CHME-3, CHME3

Đặc điểm

Age Thai nhi

Gender Không xác định

Morphology Tế bào đại thực bào

Cell type Tế bào vi mô

Tế bào HMC3 | 300102

Growth properties Người tuân thủ

Dữ liệu quy định

Citation HMC3 (Số catalog Cytion 300102)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_I176

GMO Status GMO-S1: Dòng tế bào microglia não thai nhi người (HMC3) này chứa một cấu trúc SV40 T-Antigen được đưa vào bằng phương pháp chuyển gen, hỗ trợ quá trình bất tử hóa. Phần chèn này được duy trì ổn định trong các tế bào microglia. Phân loại này chỉ áp dụng trong phạm vi Đức và có thể khác nhau ở các khu vực khác.

Dữ liệu sinh học phân tử

Viruses Vật liệu di truyền SV40 được tích hợp ổn định vào bộ gen của tế bào. Không có sự sản xuất hoặc giải phóng tích cực của các hạt virus hoàn chỉnh, điều này làm giảm bớt các mối lo ngại về an toàn sinh học tiềm ẩn.

Xử lý

Culture Medium DMEM:Ham's F12 (tỷ lệ 1:1), chứa: 3,1 g/L glucose, chứa: 2,5 mM L-glutamine, chứa: 15 mM HEPES, chứa: 0,5 mM natri pyruvate, chứa: 1,2 g/L NaHCO₃ (Số hiệu sản phẩm Cytion 820400a)

Supplements Bổ sung 10% huyết thanh bò phôi (FBS) vào môi trường nuôi cấy

Dissociation Reagent Accutase

Doubling time 24 giờ và 48 giờ

Subculturing Loại bỏ môi trường nuôi cấy cũ khỏi các tế bào bám dính và rửa chúng bằng PBS không chứa canxi và magiê. Đối với bình T25, sử dụng 3-5 ml PBS, và đối với bình T75, sử dụng 5-10 ml. Sau đó, phủ hoàn toàn các tế bào bằng Accutase, sử dụng 1-2 ml cho bình T25 và 2,5 ml cho bình T75. Để tế bào ủ ở nhiệt độ phòng trong 8-10 phút để tách chúng ra. Sau khi ủ, nhẹ nhàng trộn tế bào với 10 ml môi trường để tái phân tán chúng, sau đó ly tâm ở 300xg trong 3 phút. Loại bỏ dịch trên, tái phân tán tế bào trong môi trường tươi và chuyển chúng vào các bình mới đã chứa môi trường tươi.

Tế bào HMC3 | 300102

Freeze medium

Như một môi trường bảo quản đông lạnh, chúng tôi sử dụng môi trường tăng trưởng hoàn chỉnh (bao gồm FBS) + 10% DMSO để đảm bảo độ sống sau khi rã đông, hoặc CM-1 (mã sản phẩm Cytion 800100), bao gồm các chất bảo vệ thẩm thấu và chất ổn định chuyển hóa được tối ưu hóa để nâng cao khả năng phục hồi và giảm stress do đông lạnh gây ra.

Thawing and Culturing Cells

1. Xác nhận rằng ống nghiệm vẫn được đông lạnh sâu khi giao hàng, vì tế bào được vận chuyển trên đá khô để duy trì nhiệt độ tối ưu trong quá trình vận chuyển.
2. Khi nhận hàng, hãy bảo quản ống nghiệm đông lạnh ngay lập tức ở nhiệt độ dưới -150°C để đảm bảo tính toàn vẹn của tế bào, hoặc tiến hành bước 3 nếu cần nuôi cấy ngay lập tức.
3. Để nuôi cấy ngay lập tức, hãy rã đông ống nghiệm nhanh chóng bằng cách ngâm nó trong bồn nước 37°C với nước sạch và chất kháng khuẩn, khuấy nhẹ trong 40-60 giây cho đến khi còn lại một khối băng nhỏ.
4. Thực hiện tất cả các bước tiếp theo trong điều kiện vô trùng trong tủ hút khí, khử trùng ống cryovial bằng cồn 70% trước khi mở.
5. Mở ống đã khử trùng một cách cẩn thận và chuyển hỗn hợp tế bào vào ống ly tâm 15 ml chứa 8 ml môi trường nuôi cấy ở nhiệt độ phòng, khuấy nhẹ.
6. Ly tâm hỗn hợp ở 300 x g trong 3 phút để tách tế bào và cẩn thận loại bỏ dịch siêu âm chứa môi trường đông lạnh còn lại.
7. Nhẹ nhàng hòa tan lại khối tế bào trong 10 ml môi trường nuôi cấy tươi. Đối với tế bào bám dính, chia hỗn hợp vào hai bình nuôi cấy T25; đối với tế bào nuôi cấy lơ lửng, chuyển toàn bộ môi trường vào một bình T25 để thúc đẩy tương tác và phát triển tế bào hiệu quả.
8. Tuân thủ các quy trình nuôi cấy con được thiết lập để duy trì sự phát triển và bảo quản dòng tế bào, đảm bảo kết quả thí nghiệm đáng tin cậy.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , môi trường ẩm.

Flask Coating

Để đạt được độ bám dính và khả năng sống sót tối ưu sau khi rã đông, chúng tôi khuyến nghị sử dụng **các ống nghiệm hoặc đĩa được phủ collagen**.

Tế bào HMC3 | 300102

Freezing Procedure

Các dòng tế bào được bảo quản bằng phương pháp đông lạnh được vận chuyển trên đá khô trong bao bì cách nhiệt đã được kiểm định, kèm theo lượng chất làm lạnh đủ để duy trì nhiệt độ khoảng -78°C trong suốt quá trình vận chuyển. Khi nhận hàng, hãy kiểm tra ngay lập tức bao bì và chuyển các ống nghiệm sang nơi lưu trữ phù hợp mà không chậm trễ.

Shipping Conditions

Các dòng tế bào được bảo quản bằng phương pháp đông lạnh được vận chuyển trên đá khô trong bao bì cách nhiệt đã được kiểm định, kèm theo lượng chất làm lạnh đủ để duy trì nhiệt độ khoảng -78°C trong suốt quá trình vận chuyển. Khi nhận hàng, hãy kiểm tra ngay lập tức bao bì và chuyển các ống nghiệm sang nơi lưu trữ phù hợp mà không chậm trễ.

Storage Conditions

Để bảo quản lâu dài, hãy đặt ống nghiệm vào nitơ lỏng ở pha hơi ở nhiệt độ khoảng -150 đến -196°C . Việc bảo quản ở -80°C chỉ được chấp nhận như một bước trung gian ngắn hạn trước khi chuyển sang nitơ lỏng.

Kiểm soát chất lượng / Hồ sơ di truyền / HLA

Sterility

Sự nhiễm khuẩn Mycoplasma được loại trừ bằng cả các phương pháp xét nghiệm dựa trên PCR và các phương pháp phát hiện Mycoplasma dựa trên phát quang.

Để đảm bảo không có nhiễm khuẩn vi khuẩn, nấm hoặc men, các mẫu nuôi cấy tế bào được kiểm tra trực quan hàng ngày.