

## Клетки HMC3 | 300102

## Обща информация

## Description

Клетъчната линия Human Microglial Clone 3 (HMC3) е разработена през 1995 г. от екипа на професор Тардьо чрез SV40-зависима имортализация на микроглиални клетки от човешки гръбначен мозък и кортикални тъкани, получени от ембриони на възраст между 8 и 12 седмици. Тези първични клетки, характеризиращи се с бавно делене и сложна морфология, първоначално са култивирани в продължение на 10-15 дни, преди да бъдат имортализирани. Клетките HMC3 запазват няколко ключови характеристики на първичните микроглии, като например разнообразна експресия на миелоидни маркери като CD68, CD11b и CD14, въпреки че нивата на експресия варират значително в зависимост от избора на първично анти тяло, особено за CD68.

След имортализацията клетките HMC3 показват повишена степен на пролиферация, като времето за удвояване е между 24 и 48 часа, като същевременно запазват много фенотипни и морфологични характеристики на своите първични аналози. Забележително е, че се наблюдава по-висок дял на CD68 EBМ/11-положителните клетки и намаляване на фагоцитната активност в сравнение с първичните клетки. Стабилността на антигенната експресия е потвърдена през 35 пасажа, като клетките остават положителни за NSE, CD68 и CD11b, но отрицателни за CD14, MHCII и CD4 при базови условия. Въпреки това, излагането на интерферон-γ (IFNγ) повишава експресията на MHCII, което е по-близко до отговорите на първичните култури на същото третиране.

Във функционално отношение линията HMC3 се отличава с по-високи нива на интерлевкин-6 (IL-6) при базови условия в сравнение с другите клонове. Въпреки това директното сравнение с производството на цитокини от първичните микроглиални клетки остава предизвикателство поради методологичните различия. Отговорът към стимулация с липополизахарид (LPS) при тези имортализирани линии изглежда намален в сравнение с първичните култури. В съответствие с характеристиките на първичните микроглии, HMC3 и другите клонирани линии не произвеждат тумор некротизиращ фактор алфа (TNFα), нито спонтанно, нито след провъзпалителна стимулация, което подчертава специфична черта на човешките ембрионални микроглии.

**Organism** Човек

**Tissue** Фетален мозък

**Applications** 3D клетъчна култура, Неврология, Невроинфламация

**Synonyms** Човешки микроглия клонинг 3, CHME-3, CHME3

## Характеристики

**Age** Плод

**Gender** Неуточнено

**Morphology** Макрофаги

## Клетки НМС3 | 300102

**Cell type** Микроглиална клетка

**Growth properties** Придържачи се

## Регулаторни данни

**Citation** НМС3 (каталожен номер 300102 на Cytion)

**Biosafety level** 1

**NCBI\_TaxID** 9606

**CellosaurusAccession** CVCL\_I176

**GMO Status** GMO-S1: Тази клетъчна линия на човешки ембрионален мозъчен микроглий (НМС3) съдържа SV40 Т-антиген конструкт, въведен чрез трансфекция, който подпомага имортализацията. Вложката е стабилно налична в клетките, получени от микроглия. Тази класификация се прилага само в Германия и може да се различава в други страни.

## Биомолекулярни данни

**Viruses** Генетичният материал на SV40 се интегрира стабилно в генома на клетката. Няма активно производство или освобождаване на пълни вирусни частици, което намалява потенциалните опасения за биологична безопасност.

## Работа с

**Culture Medium** DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/L глюкоза, w: 2,5 mM L-глутамин, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM натриев пируват, w: 1,2 g/L NaHCO<sub>3</sub> (номер на изделието на Cytion 820400a)

**Supplements** Допълнете средата с 10% FBS

**Dissociation Reagent** Accutase

**Doubling time** 24 и 48 часа

## Клетки НМСЗ | 300102

### Subculturing

Отстранете старата среда от адхезивните клетки и ги промийте с PBS, която не съдържа калций и магнезий. За колби T25 използвайте 3-5 ml PBS, а за колби T75 - 5-10 ml. След това покрийте клетките изцяло с Accutase, като използвате 1-2 ml за колби T25 и 2,5 ml за колби T75. Оставете клетките да се инкубират на стайна температура за 8-10 минути, за да се отделят. След инкубацията внимателно разбъркайте клетките с 10 ml среда, за да ги ресуспендирайте, след което центрофугирайте при 300xg за 3 минути. Изхвърлете супернатантата, ресуспендирайте клетките в прясна среда и ги прехвърлете в нови колби, които вече съдържат прясна среда.

### Freeze medium

Като среда за криоконсервация използваме пълна среда за растеж (включително FBS) + 10% DMSO за адекватна жизнеспособност след размразяване или CM-1 (каталожен номер 800100 на Cytion), която включва оптимизирани осмопротектори и метаболитни стабилизатори за подобряване на възстановяването и намаляване на криоиндуцирания стрес.

### Thawing and Culturing Cells

1. Уверете се, че флаконът остава дълбоко замразен при доставката, тъй като клетките се транспортират със сух лед, за да се поддържат оптимални температури по време на транспортирането.
2. При получаване или съхранявайте незабавно криовиолата при температури под  $-150^{\circ}\text{C}$ , за да осигурите запазване на клетъчната цялост, или преминете към стъпка 3, ако е необходимо незабавно култивиране.
3. За незабавно култивиране бързо размразете флакона, като го потопите във водна баня с чиста вода и антимикробен агент с температура  $37^{\circ}\text{C}$ , като разбърквате внимателно в продължение на 40-60 секунди, докато остане малка ледена бучка.
4. Извършвайте всички следващи стъпки при стерилни условия в аспиратор, като преди отваряне дезинфекцирате криовиолата със 70% етанол.
5. Внимателно отворете дезинфекцирания флакон и прехвърлете клетъчната суспензия в 15 ml центрофужна епруветка, съдържаща 8 ml хранителна среда със стайна температура, като разбърквате внимателно.
6. Центрофугирайте сместа при 300 x g в продължение на 3 минути, за да отделите клетките, и внимателно изхвърлете супернатантата, съдържаща остатъчна замразяваща среда.
7. Внимателно ресуспендирайте клетъчната пелета в 10 ml прясна хранителна среда. За адхезивни клетки разделете суспензията между две колби T25; за суспензионни култури прехвърлете цялата среда в една колба T25, за да стимулирате ефективното взаимодействие и растеж на клетките.
8. Придържайте се към установените протоколи за субкултивиране за непрекъснат растеж и поддържане на клетъчната линия, като гарантирате надеждни експериментални резултати.

## Клетки НМС3 | 300102

**Incubation Atmosphere** 37°C, 5% CO<sub>2</sub>, овлажнена атмосфера.

**Flask Coating** За оптимално прикрепване и жизнеспособност след размразяване препоръчваме да се използват **колби или плаки с колагеново покритие**.

**Freezing Procedure** Кριοконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително -78 °C по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

**Shipping Conditions** Кριοконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително -78 °C по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

**Storage Conditions** За дълготрайно съхранение поставете флаконите в течен азот в парна фаза при температура около -150 до -196 °C. Съхранението при -80 °C е приемливо само като кратък междинен етап преди прехвърлянето в течен азот.

## Контрол на качеството / Генетичен профил / HLA

**Sterility** Замърсяването с микоплазма се изключва както чрез PCR-базирани анализи, така и чрез луминесцентни методи за откриване на микоплазма.

За да се гарантира, че няма бактериално, гъбично или дрождево замърсяване, клетъчните култури се подлагат на ежедневни визуални проверки.