Product sheet

HMC3-celler | 300102

Generel information

Description	Cellelinjen Human Microglial Clone 3 (HMC3) blev udviklet i 1995 af professor Tardieus team gennem SV40-afhængig udødeliggørelse af mikrogliaceller fra human rygmarv og kortikalt væv fra embryoner i alderen 8 til 12 uger. Disse primære celler, der er kendetegnet ved langsom deling og komplekse morfologier, blev oprindeligt dyrket i 10-15 dage før udødeligheden. HMC3-cellerne bevarede flere af de vigtigste træk ved primære mikroglia, såsom et varieret udtryk for myeloide markører som CD68, CD11b og CD14, selv om udtryksniveauerne varierede betydeligt med valget af primært antistof, især for CD68. Efter udødeliggørelse udviste HMC3-cellerne øget spredning med fordoblingstider på mellem 24 og 48 timer, samtidig med at de bevarede mange fænotypiske og morfologiske egenskaber fra deres primære modstykker. Især var der en højere andel af CD68 EBM/11-positive celler og en reduktion i fagocytisk aktivitet sammenlignet med de primære celler. Stabiliteten i det antigene udtryk blev bekræftet på tværs af 35 passager, hvor cellerne forblev positive for NSE, CD68 og CD11b, men negative for CD14, MHCII og CD4 under baseline-betingelser. Eksponering for interferon-γ (IFNγ) øgede imidlertid MHCII-ekspressionen, hvilket stemmer bedre overens med primærkulturens reaktion på den samme behandling. Funktionelt skilte HMC3-linjen sig ud ved at producere højere niveauer af interleukin-6 (IL-6) under basale forhold sammenlignet med andre kloner. På trods af dette er en direkte sammenligning med primære mikrogliacellers cytokinproduktion stadig en udfordring på grund af metodologiske forskelle. Responsen på lipopolysaccharid (LPS)-stimulering i disse udødeliggjorte linjer så ud til at være reduceret i forhold til primære kulturer. I overensstemmelse med primære mikroglia-egenskaber producerede HMC3 og andre klonede linjer ikke tumornekrosefaktor-alfa (TNFα), hverken spontant eller efter pro-inflammatorisk stimulering, hvilket fremhæver et specifikt træk ved humane embryonale mikroglia.
Organism	Menneske
Tissue	Fosterets hjerne
Applications	3D-cellekultur, neurovidenskab, neuroinflamation
Synonyms	Human Microglia klon 3, CHME-3, CHME3

Karakteristika

Age	Foster
Gender	Uspecificeret
Morphology	Makrofag
Cell type	Mikroglial celle

HMC3-celler | 300102

Growth properties	Vedhæftende

Regulatoriske data

Citation	HMC3 (Cytion katalognummer 300102)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_II76
GMO Status	GMO-S1: Denne humane føtale hjernemikrogliacellelinje (HMC3) indeholder en SV40 T-antigen-konstruktion, der er indført ved transfektion og understøtter udødeliggørelse. Indsatsen er stabilt til stede i mikroglia-afledte celler. Denne klassificering gælder kun i Tyskland og kan variere andre steder.

Biomolekylære data

Viruses	SV40's genetiske materiale er stabilt integreret i cellegenomet. Der er ingen aktiv produktion eller frigivelse af komplette viruspartikler, hvilket mindsker potentielle problemer med biosikkerheden.

Håndtering

Culture Medium	DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/L Glucose, w: 2,5 mM L-Glutamin, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM Sodium pyruvate, w: 1,2 g/L NaHCO3 (Cytion artikelnummer 820400a)
Supplements	Suppler mediet med 10% FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	24 og 48 timer
Subculturing	Fjern det gamle medium fra de klæbende celler, og vask dem med PBS, der ikke indeholder calcium og magnesium. Brug 3-5 ml PBS til T25-kolber og 5-10 ml til T75-kolber. Dæk derefter cellerne helt med Accutase, brug 1-2 ml til T25-kolber og 2,5 ml til T75-kolber. Lad cellerne inkubere ved stuetemperatur i 8-10 minutter for at løsne dem. Efter inkubationen blandes cellerne forsigtigt med 10 ml medium for at resuspendere dem, og centrifugeres derefter ved 300xg i 3 minutter. Kassér supernatanten, resuspender cellerne i frisk medium, og overfør dem til nye kolber, der allerede indeholder frisk medium.

HMC3-celler | 300102

Freeze medium	Som kryopræserveringsmedium bruger vi komplet vækstmedium (inklusive FBS) + 10 % DMSO for tilstrækkelig levedygtighed efter optøning eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som indeholder optimerede osmobeskyttende stoffer og metaboliske stabilisatorer for at forbedre genopretningen og reducere kryo-induceret stress.
Thawing and Culturing Cells	1. Bekræft, at hætteglasset forbliver dybfrosset ved levering, da cellerne sendes på tøris for at opretholde optimale temperaturer under transport. 2. Ved modtagelsen skal du enten straks opbevare kryohætteglasset ved temperaturer under -150 °C for at sikre, at cellernes integritet bevares, eller gå videre til trin 3, hvis øjeblikkelig dyrkning er påkrævet. 3. Ved øjeblikkelig dyrkning optøs hætteglasset hurtigt ved at nedsænke det i et 37 °C varmt vandbad med rent vand og et antimikrobielt middel og røre forsigtigt i 40-60 sekunder, indtil der kun er en lille isklump tilbage. 4. Udfør alle efterfølgende trin under sterile forhold i en flowhætte, og desinficer kryovialet med 70 % ethanol, før det åbnes. 5. Åbn forsigtigt det desinficerede hætteglas, og overfør cellesuspensionen til et 15 ml centrifugerør, der indeholder 8 ml kulturmedium ved stuetemperatur, og bland forsigtigt. 6. Centrifuger blandingen ved 300 x g i 3 minutter for at adskille cellerne, og kassér omhyggeligt supernatanten, der indeholder resterende frysemedium. 7. Resuspender forsigtigt cellepelleten i 10 ml frisk dyrkningsmedium. For klæbende celler deles suspensionen mellem to T25-kulturkolber; for suspensionskulturer overføres alt mediet til en T25-kolbe for at fremme effektiv celleinteraktion og -vækst. 8. Overhold etablerede subkulturprotokoller for fortsat vækst og vedligeholdelse af cellelinjen, hvilket sikrer pålidelige eksperimentelle resultater.
Incubation Atmosphere	37°C, 5%$_{CO2}$, befugtet atmosfære.
Flask Coating	Ingen
Freezing Procedure	Kryopræserverede cellelinjer sendes på tøris i valideret, isoleret emballage med tilstrækkeligt kølemiddel til at opretholde ca. -78 °C under hele transporten. Ved modtagelse skal beholderen straks inspiceres, og hætteglassene skal straks overføres til passende opbevaring.

Shipping Conditions	Kryopræserverede cellelinjer sendes på tøris i valideret, isoleret emballage med tilstrækkeligt kølemiddel til at opretholde ca. -78 °C under hele transporten. Ved modtagelse skal beholderen straks inspiceres, og hætteglassene skal straks overføres til passende opbevaring.
Storage Conditions	For langtidsopbevaring anbringes hætteglas i flydende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Opbevaring ved -80 °C er kun acceptabelt som et kort mellemtrin før overførsel til flydende nitrogen.

Kvalitetskontrol og molekylær analyse

Sterility	Mycoplasma-kontaminering udelukkes ved hjælp af både PCR-baserede assays og luminescensbaserede mycoplasma-detektionsmetoder. For at sikre, at der ikke er nogen bakterie-, svampe- eller gærforurening, underkastes cellekulturerne daglige visuelle inspektioner.