Product sheet

HMC3-Zellen | 300102

Allgemeine Informationen

Description	Die Zelllinie Human Microglial Clone 3 (HMC3) wurde 1995 vom Team von Professor Tardieu durch SV40-abhängige Immortalisierung von Mikrogliazellen aus menschlichem Rückenmarks- und Kortikalgewebe entwickelt, die von Embryonen im Alter von 8 bis 12 Wochen stammen. Diese primären Zellen, die sich durch langsame Teilung und komplexe Morphologien auszeichnen, wurden vor der Immortalisierung zunächst 10-15 Tage lang kultiviert. Die HMC3-Zellen behielten mehrere Schlüsselmerkmale primärer Mikroglia bei, wie z. B. eine vielfältige Expression myeloider Marker wie CD68, CD11b und CD14, obwohl die Expressionswerte je nach Wahl des primären Antikörpers, insbesondere für CD68, deutlich variierten. Nach der Immortalisierung wiesen die HMC3-Zellen erhöhte Proliferationsraten mit Verdopplungszeiten zwischen 24 und 48 Stunden auf, wobei viele phänotypische und morphologische Merkmale ihrer primären Gegenstücke erhalten blieben. Insbesondere war der Anteil der CD68 EBM/11-positiven Zellen höher und die phagozytische Aktivität geringer als bei den primären Zellen. Die Stabilität der Antigenexpression wurde über 35 Passagen hinweg bestätigt, wobei die Zellen unter Ausgangsbedingungen positiv für NSE, CD68 und CD11b, aber negativ für CD14, MHCII und CD4 blieben. Die Exposition gegenüber Interferon-γ (IFNγ) erhöhte jedoch die MHCII-Expression und entsprach damit eher den Reaktionen der Primärkultur auf dieselbe Behandlung. In funktioneller Hinsicht zeichnete sich die HMC3-Linie dadurch aus, dass sie im Vergleich zu anderen Klonen unter Ausgangsbedingungen höhere Mengen an Interleukin-6 (IL-6) produzierte. Trotzdem bleibt ein direkter Vergleich mit der Zytokinproduktion primärer Mikrogliazellen aufgrund methodischer Unterschiede schwierig. Die Reaktion auf die Stimulierung durch Lipopolysaccharid (LPS) schien bei diesen immortalisierten Linien im Vergleich zu Primärkulturen vermindert zu sein. Im Einklang mit primären Mikrogliaeigenschaften produzierten die HMC3- und andere klonierte Linien weder spontan noch nach einer entzündungsfördernden Stimulation Tumor-Nekrose-Faktor-alpha (TNFα), was ein spezifisches Merkmal der humanen embryonalen Mikroglia hervorhebt.
Organism	Menschen
Tissue	Fötales Gehirn
Applications	3D-Zellkultur, Neurowissenschaften, Neuroinflammation
Synonyms	Menschlicher Mikroglia-Klon 3, CHME-3, CHME3

Merkmale

Age	Fötus
Gender	Nicht spezifiziert
Morphology	Makrophagen
Cell type	Mikrogliazelle

HMC3-Zellen | 300102

Growth properties	Adhärent

Regulatorische Daten

Citation	HMC3 (Cytion Katalognummer 300102)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_II76
GMO Status	GMO-S1: Diese Mikroglia-Zelllinie des menschlichen fötalen Gehirns (HMC3) enthält ein durch Transfektion eingeführtes SV40-T-Antigen-Konstrukt, das die Immortalisierung unterstützt. Das Insert ist in von Mikroglia abgeleiteten Zellen stabil vorhanden. Diese Klassifizierung gilt nur innerhalb Deutschlands und kann in anderen Ländern abweichen.

Biomolekulare Daten

Viruses	Das SV40-Genmaterial wird stabil in das Zellgenom integriert. Es findet keine aktive Produktion oder Freisetzung vollständiger Viruspartikel statt, was mögliche Bedenken hinsichtlich der biologischen Sicherheit ausräumt.

Handhabung

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 Natriumpyruvat, w: 1,2 g/L NaHCO3 (Cytion-Artikelnummer 820400a)
Supplements	Ergänzen Sie das Medium mit 10% FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	24 und 48 Stunden
Subculturing	Entfernen Sie das alte Medium von den adhärenten Zellen und waschen Sie sie mit PBS, das kein Kalzium und Magnesium enthält. Für T25-Kolben 3-5 ml PBS und für T75-Kolben 5-10 ml verwenden. Anschließend werden die Zellen vollständig mit Accutase bedeckt, wobei 1-2 ml für T25-Kolben und 2,5 ml für T75-Kolben verwendet werden. Lassen Sie die Zellen 8-10 Minuten bei Raumtemperatur inkubieren, um sie abzulösen. Nach der Inkubation mischen Sie die Zellen vorsichtig mit 10 ml Medium, um sie zu resuspendieren, und zentrifugieren sie dann 3 Minuten lang bei 300xg. Den Überstand verwerfen, die Zellen in frischem Medium resuspendieren und in neue Kolben überführen, die bereits frisches Medium enthalten.

HMC3-Zellen | 300102

Freeze medium	Als Kryokonservierungsmedium verwenden wir komplettes Wachstumsmedium (einschließlich FBS) + 10 % DMSO für eine angemessene Lebensfähigkeit nach dem Auftauen oder CM-1 (Cytion Katalognummer 800100), das optimierte Osmoprotektoren und Stoffwechselstabilisatoren enthält, um die Erholung zu verbessern und kryoinduzierten Stress zu reduzieren.
Thawing and Culturing Cells	1. Vergewissern Sie sich, dass das Fläschchen bei der Lieferung tiefgefroren ist, da die Zellen auf Trockeneis versandt werden, um während des Transports optimale Temperaturen zu erhalten. 2. Lagern Sie das Kryofläschchen nach Erhalt entweder sofort bei Temperaturen unter -150 °C, um die Unversehrtheit der Zellen zu gewährleisten, oder fahren Sie mit Schritt 3 fort, wenn eine sofortige Kultivierung erforderlich ist. 3. Für eine sofortige Kultivierung tauen Sie das Fläschchen schnell auf, indem Sie es in ein 37°C warmes Wasserbad mit sauberem Wasser und einem antimikrobiellen Mittel eintauchen und 40-60 Sekunden lang vorsichtig schütteln, bis ein kleiner Eisklumpen zurückbleibt. 4. Führen Sie alle weiteren Schritte unter sterilen Bedingungen in einer Abzugshaube durch und desinfizieren Sie das Kryo-Fläschchen vor dem Öffnen mit 70%igem Ethanol. 5. Das desinfizierte Fläschchen vorsichtig öffnen und die Zellsuspension unter vorsichtigem Mischen in ein 15-ml-Zentrifugenröhrchen mit 8 ml Kulturmedium bei Raumtemperatur überführen. 6. Zentrifugieren Sie das Gemisch 3 Minuten lang bei 300 x g, um die Zellen abzutrennen, und verwerfen Sie den Überstand mit dem restlichen Gefriermedium vorsichtig. 7. Das Zellpellet vorsichtig in 10 ml frischem Kulturmedium resuspendieren. Bei adhärenten Zellen die Suspension auf zwei T25-Kulturflaschen aufteilen; bei Suspensionskulturen das gesamte Medium in eine T25-Flasche überführen, um eine effektive Zellinteraktion und ein effektives Wachstum zu fördern. 8. Halten Sie sich an die festgelegten Subkulturprotokolle, um ein kontinuierliches Wachstum und die Aufrechterhaltung der Zelllinie zu gewährleisten und zuverlässige Versuchsergebnisse zu erzielen.
Incubation Atmosphere	37°C, 5% $_{CO2}$, befeuchtete Atmosphäre.
Flask Coating	Keine
Freezing Procedure	Kryokonservierte Zelllinien werden auf Trockeneis in einer validierten, isolierten Verpackung mit ausreichend Kühlmittel versandt, um während des gesamten Transports eine Temperatur von etwa -78 °C aufrechtzuerhalten. Prüfen Sie den Behälter bei Erhalt sofort und bringen Sie die Fläschchen unverzüglich in ein geeignetes Lager.

HMC3-Zellen | 300102

Shipping Conditions	Kryokonservierte Zelllinien werden auf Trockeneis in einer validierten, isolierten Verpackung mit ausreichend Kühlmittel versandt, um während des gesamten Transports eine Temperatur von etwa -78 °C aufrechtzuerhalten. Prüfen Sie den Behälter bei Erhalt sofort und bringen Sie die Fläschchen unverzüglich in ein geeignetes Lager.
Storage Conditions	Zur Langzeitkonservierung werden die Fläschchen in flüssigem Stickstoff bei etwa -150 bis -196 °C gelagert. Eine Lagerung bei -80 °C ist nur als kurzer Zwischenschritt vor der Überführung in flüssigen Stickstoff akzeptabel.

Qualitätskontrolle und molekulare Analyse

Sterility	Eine Kontamination mit Mykoplasmen wird sowohl durch PCR-basierte Assays als auch durch lumineszenzbasierte Mykoplasmen-Nachweisverfahren ausgeschlossen. Um sicherzustellen, dass keine Kontamination mit Bakterien, Pilzen oder Hefen vorliegt, werden die Zellkulturen täglich visuell überprüft.
STR-Profil	**Amelogenin**: x,x **CSF1PO**: 10,11 **D13S317**: 11 **D16S539**: 12,13 **D5S818**: 11,12 **D7S820**: 9,11 **TH01**: 6 **TPOX**: 8,9 **vWA**: 17,19 **D3S1358**: 16,18 **D21S11**: 30,31.2 **D18S51**: 18 **Penta E**: 7,13 **Penta D**: 10,14 **D8S1179**: 13,14 **FGA**: 21,25 **D6S1043**: 11 **D2S1338**: 17,25 **D12S391**: 16,21 **D19S433**: 15,15.2