Product sheet

Células HMC3 | 300102

Información general

Description	La línea celular Human Microglial Clone 3 (HMC3) fue desarrollada en 1995 por el equipo del profesor Tardieu mediante la inmortalización dependiente de SV40 de células microgliales procedentes de tejidos corticales y de médula espinal humanos, obtenidos de embriones de entre 8 y 12 semanas de edad. Estas células primarias, caracterizadas por una división lenta y morfologías complejas, se cultivaron inicialmente durante 10-15 días antes de la inmortalización. Las células HMC3 mantenían varias características clave de la microglía primaria, como una expresión diversa de marcadores mieloides como CD68, CD11b y CD14, aunque los niveles de expresión variaban notablemente con la elección del anticuerpo primario, en particular para CD68. Tras la inmortalización, las células HMC3 mostraron mayores tasas de proliferación, con tiempos de duplicación de entre 24 y 48 horas, al tiempo que conservaban muchas características fenotípicas y morfológicas de sus homólogas primarias. En particular, se observó una mayor proporción de células CD68 EBM/11 positivas y una reducción de la actividad fagocítica en comparación con las células primarias. Se confirmó la estabilidad de la expresión antigénica a lo largo de 35 pases, y las células siguieron siendo positivas para NSE, CD68 y CD11b, pero negativas para CD14, MHCII y CD4 en condiciones basales. Sin embargo, la exposición al interferón-γ (IFNγ) elevó la expresión de MHCII, en consonancia con las respuestas de los cultivos primarios al mismo tratamiento. Desde el punto de vista funcional, la línea HMC3 se distinguió por producir mayores niveles de interleucina-6 (IL-6) en condiciones basales en comparación con otros clones. A pesar de ello, una comparación directa con la producción de citoquinas de las células microgliales primarias sigue siendo un reto debido a las diferencias metodológicas. La respuesta a la estimulación con lipopolisacáridos (LPS) en estas líneas inmortalizadas pareció disminuir en relación con los cultivos primarios. En consonancia con las características de la microglía primaria, la línea HMC3 y otras líneas clonadas no produjeron factor de necrosis tumoral alfa (TNFα), ni espontáneamente ni tras estimulación proinflamatoria, lo que pone de relieve un rasgo específico de la microglía embrionaria humana.
Organism	Humano
Tissue	Cerebro fetal
Applications	cultivo celular 3D, Neurociencia, Neuroinflamación
Synonyms	Clon 3 de microglía humana, CHME-3, CHME3

Características

Age	Feto
Gender	Sin especificar
Morphology	Macrófagos
Cell type	Célula microglial

Células HMC3 | 300102

Growth properties	Adherente

Datos reglamentarios

Citation	HMC3 (número de catálogo 300102 de Cytion)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_II76
GMO Status	GMO-S1: Esta línea celular de microglía de cerebro fetal humano (HMC3) contiene un constructo de antígeno SV40 T introducido por transfección, que favorece la inmortalización. El inserto está presente de forma estable en las células derivadas de la microglía. Esta clasificación sólo se aplica en Alemania y puede diferir en otros países.

Datos biomoleculares

Viruses	El material genético del SV40 se integra de forma estable en el genoma celular. No hay producción activa ni liberación de partículas víricas completas, lo que mitiga los posibles problemas de bioseguridad.

Manejo de

Culture Medium	DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/L de glucosa, w: 2,5 mM de L-glutamina, w: 15 mM de HEPES, w: 0,5 mM de piruvato sódico, w: 1,2 g/L de NaHCO3 (número de artículo de Cytion 820400a)
Supplements	Complementar el medio con un 10% de FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	24 y 48 horas
Subculturing	Retire el medio antiguo de las células adheridas y lávelas con PBS que carezca de calcio y magnesio. Para matraces T25, utilice 3-5 ml de PBS, y para matraces T75, utilice 5-10 ml. A continuación, cubra completamente las células con Accutase, utilizando 1-2 ml para matraces T25 y 2,5 ml para matraces T75. Deje incubar las células a temperatura ambiente durante 8-10 minutos para desprenderlas. Tras la incubación, mezclar suavemente las células con 10 ml de medio para resuspenderlas y, a continuación, centrifugar a 300xg durante 3 minutos. Desechar el sobrenadante, resuspender las células en medio fresco y transferirlas a nuevos matraces que ya contengan medio fresco.

Células HMC3 | 300102

Freeze medium	Como medio de criopreservación, utilizamos el medio de crecimiento completo (incluido FBS) + 10% DMSO para una viabilidad adecuada tras la descongelación, o CM-1 (número de catálogo 800100 de Cytion), que incluye osmoprotectores optimizados y estabilizadores metabólicos para mejorar la recuperación y reducir el estrés crioinducido.
Thawing and Culturing Cells	1. Confirme que el vial permanece profundamente congelado en el momento de la entrega, ya que las células se envían en hielo seco para mantener temperaturas óptimas durante el transporte. 2. Tras la recepción, almacene el criovial inmediatamente a temperaturas inferiores a -150°C para garantizar la conservación de la integridad celular, o proceda al paso 3 si se requiere el cultivo inmediato. 3. Para el cultivo inmediato, descongele rápidamente el vial sumergiéndolo en un baño de agua a 37°C con agua limpia y un agente antimicrobiano, agitando suavemente durante 40-60 segundos hasta que quede un pequeño grumo de hielo. 4. Realice todos los pasos siguientes en condiciones estériles en una campana de flujo, desinfectando el criovial con etanol al 70% antes de abrirlo. 5. Abrir con cuidado el vial desinfectado y transferir la suspensión celular a un tubo de centrífuga de 15 ml que contenga 8 ml de medio de cultivo a temperatura ambiente, mezclando suavemente. 6. Centrifugar la mezcla a 300 x g durante 3 minutos para separar las células y desechar cuidadosamente el sobrenadante que contiene medio de congelación residual. 7. Resuspender suavemente el sedimento celular en 10 ml de medio de cultivo fresco. Para las células adherentes, dividir la suspensión entre dos matraces de cultivo T25; para los cultivos en suspensión, transferir todo el medio a un matraz T25 para promover la interacción y el crecimiento celular efectivos. 8. Siga los protocolos de subcultivo establecidos para el crecimiento y mantenimiento continuos de la línea celular, garantizando resultados experimentales fiables.
Incubation Atmosphere	37°C, 5%$_{CO2}$, atmósfera humidificada.
Flask Coating	Ninguno
Freezing Procedure	Las líneas celulares crioconservadas se envían en hielo seco en envases validados y aislados con suficiente refrigerante para mantener aproximadamente -78 °C durante el tránsito. A la recepción, inspeccione el envase inmediatamente y transfiera los viales sin demora al almacenamiento adecuado.

Células HMC3 | 300102

Shipping Conditions	Las líneas celulares crioconservadas se envían en hielo seco en envases validados y aislados con suficiente refrigerante para mantener aproximadamente -78 °C durante el tránsito. A la recepción, inspeccione el envase inmediatamente y transfiera los viales sin demora al almacenamiento adecuado.
Storage Conditions	Para la conservación a largo plazo, colocar los viales en nitrógeno líquido en fase vapor a una temperatura aproximada de -150 a -196 °C. El almacenamiento a -80 °C sólo es aceptable como breve paso intermedio antes de la transferencia al nitrógeno líquido.

Control de calidad y análisis molecular

Sterility	La contaminación por micoplasma se excluye utilizando tanto ensayos basados en la PCR como métodos de detección de micoplasma basados en la luminiscencia. Para garantizar la ausencia de contaminación bacteriana, fúngica o por levaduras, los cultivos celulares se someten a inspecciones visuales diarias.
Perfil de STR	**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