Product sheet

Cellules HMC3 | 300102

Informations générales

Description	La lignée cellulaire Human Microglial Clone 3 (HMC3) a été développée en 1995 par l'équipe du Professeur Tardieu grâce à l'immortalisation dépendante du SV40 de cellules microgliales provenant de la moelle épinière et de tissus corticaux humains, obtenus à partir d'embryons âgés de 8 à 12 semaines. Ces cellules primaires, caractérisées par une division lente et des morphologies complexes, ont d'abord été cultivées pendant 10 à 15 jours avant d'être immortalisées. Les cellules HMC3 ont conservé plusieurs caractéristiques clés de la microglie primaire, telles que l'expression diversifiée de marqueurs myéloïdes comme CD68, CD11b et CD14, bien que les niveaux d'expression varient considérablement en fonction du choix de l'anticorps primaire, en particulier pour CD68. Après l'immortalisation, les cellules HMC3 ont présenté des taux de prolifération accrus, avec des temps de doublement compris entre 24 et 48 heures, tout en conservant de nombreuses caractéristiques phénotypiques et morphologiques de leurs homologues primaires. Notamment, il y avait une plus grande proportion de cellules CD68 EBM/11-positives et une réduction de l'activité phagocytaire par rapport aux cellules primaires. La stabilité de l'expression antigénique a été confirmée sur 35 passages, les cellules restant positives pour NSE, CD68 et CD11b, mais négatives pour CD14, MHCII et CD4 dans les conditions de base. Cependant, l'exposition à l'interféron-γ (IFNγ) a augmenté l'expression du MHCII, s'alignant plus étroitement sur les réponses des cultures primaires au même traitement. Sur le plan fonctionnel, la lignée HMC3 s'est distinguée en produisant des niveaux plus élevés d'interleukine-6 (IL-6) dans des conditions basales par rapport aux autres clones. Malgré cela, une comparaison directe avec la production de cytokines des cellules microgliales primaires reste difficile en raison de différences méthodologiques. La réponse à la stimulation par le lipopolysaccharide (LPS) dans ces lignées immortalisées semble diminuée par rapport aux cultures primaires. Conformément aux caractéristiques des microglies primaires, la lignée HMC3 et d'autres lignées clonées n'ont pas produit de facteur de nécrose tumorale alpha (TNFα), que ce soit spontanément ou à la suite d'une stimulation pro-inflammatoire, ce qui met en évidence une caractéristique spécifique de la microglie embryonnaire humaine.
Organism	Humain
Tissue	Cerveau du fœtus
Applications	culture cellulaire 3D, Neuroscience, Neuroinflammation
Synonyms	Clone humain de microglie 3, CHME-3, CHME3

Caractéristiques

Age	Fœtus
Gender	Non spécifié
Morphology	Macrophage

Cellules HMC3 | 300102

Cell type	Cellule microgliale
Growth properties	Adhérent

Données réglementaires

Citation	HMC3 (numéro de catalogue Cytion 300102)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_II76
GMO Status	OGM-S1 : Cette lignée cellulaire de microglie de cerveau fœtal humain (HMC3) contient une construction SV40 T-Antigen introduite par transfection, favorisant l'immortalisation. L'insert est présent de manière stable dans les cellules dérivées de la microglie. Cette classification ne s'applique qu'en Allemagne et peut différer dans d'autres pays.

Données biomoléculaires

Viruses	Le matériel génétique du SV40 est intégré de manière stable dans le génome cellulaire. Il n'y a pas de production active ou de libération de particules virales complètes, ce qui atténue les problèmes potentiels de biosécurité.

Manipulation

Culture Medium	DMEM:Ham's F12 (1:1), w : 3.1 g/L Glucose, w : 2.5 mM L-Glutamine, w : 15 mM HEPES, w : 0.5 mM Sodium pyruvate, w : 1.2 g/L NaHCO3 (numéro d'article Cytion 820400a)
Supplements	Compléter le milieu avec 10% de FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	24 et 48 heures

Cellules HMC3 | 300102

Subculturing	Retirer l'ancien milieu des cellules adhérentes et les laver avec du PBS dépourvu de calcium et de magnésium. Pour les flacons T25, utiliser 3-5 ml de PBS, et pour les flacons T75, 5-10 ml. Ensuite, recouvrir complètement les cellules avec Accutase, en utilisant 1 à 2 ml pour les flacons T25 et 2,5 ml pour les flacons T75. Laisser les cellules incuber à température ambiante pendant 8-10 minutes pour les détacher. Après incubation, mélanger délicatement les cellules avec 10 ml de milieu pour les remettre en suspension, puis centrifuger à 300xg pendant 3 minutes. Jeter le surnageant, remettre les cellules en suspension dans du milieu frais et les transférer dans de nouveaux flacons contenant déjà du milieu frais.
Freeze medium	Comme milieu de cryoconservation, nous utilisons un milieu de croissance complet (comprenant du FBS) + 10 % de DMSO pour une viabilité adéquate après décongélation, ou CM-1 (numéro de catalogue 800100 de Cytion), qui comprend des osmoprotectants et des stabilisateurs métaboliques optimisés pour améliorer la récupération et réduire le stress induit par la cryogénisation.

Thawing and Culturing Cells

1. Confirmer que le flacon est toujours congelé à la livraison, car les cellules sont expédiées sur de la glace sèche pour maintenir des températures optimales pendant le transport.
2. Dès réception, soit conserver immédiatement le cryovial à des températures inférieures à -150°C pour assurer la préservation de l'intégrité cellulaire, soit passer à l'étape 3 si une mise en culture immédiate est nécessaire.
3. Pour une mise en culture immédiate, décongeler rapidement le flacon en l'immergeant dans un bain-marie à 37°C avec de l'eau propre et un agent antimicrobien, en l'agitant doucement pendant 40 à 60 secondes jusqu'à ce qu'il ne reste qu'un petit amas de glace.
4. Effectuer toutes les étapes suivantes dans des conditions stériles sous une hotte à flux, en désinfectant le cryovial avec de l'éthanol à 70 % avant de l'ouvrir.
5. Ouvrir soigneusement le flacon désinfecté et transférer la suspension cellulaire dans un tube à centrifuger de 15 ml contenant 8 ml de milieu de culture à température ambiante, en mélangeant doucement.
6. Centrifuger le mélange à 300 x g pendant 3 minutes pour séparer les cellules et jeter soigneusement le surnageant contenant le milieu de congélation résiduel.
7. Remettre doucement en suspension le culot cellulaire dans 10 ml de milieu de culture frais. Pour les cellules adhérentes, répartir la suspension entre deux flacons de culture T25 ; pour les cultures en suspension, transférer tout le milieu dans un seul flacon T25 afin de favoriser une interaction et une croissance efficaces des cellules.
8. Respecter les protocoles de sous-culture établis pour une croissance et un entretien continus de la lignée cellulaire, garantissant ainsi des résultats expérimentaux fiables.

Cellules HMC3 | 300102

Incubation Atmosphere	37°C, 5%$_{CO2}$, atmosphère humidifiée.
Flask Coating	Aucun
Freezing Procedure	Les lignées cellulaires cryoconservées sont expédiées sur glace sèche dans des emballages isolés et validés, avec suffisamment de réfrigérant pour maintenir une température d'environ -78 °C tout au long du transport. À la réception, inspecter immédiatement le conteneur et transférer sans délai les flacons dans un lieu de stockage approprié.
Shipping Conditions	Les lignées cellulaires cryoconservées sont expédiées sur glace sèche dans des emballages isolés et validés, avec suffisamment de réfrigérant pour maintenir une température d'environ -78 °C tout au long du transport. À la réception, inspecter immédiatement le conteneur et transférer sans délai les flacons dans un lieu de stockage approprié.
Storage Conditions	Pour une conservation à long terme, placer les flacons dans de l'azote liquide en phase vapeur à une température comprise entre -150 et -196 °C environ. Le stockage à -80 °C n'est acceptable qu'en tant qu'étape intermédiaire de courte durée avant le transfert dans l'azote liquide.

Contrôle qualité et analyse moléculaire

Sterility	La contamination par les mycoplasmes est exclue à l'aide de tests basés sur la PCR et de méthodes de détection des mycoplasmes basées sur la luminescence. Pour s'assurer de l'absence de contamination bactérienne, fongique ou levurienne, les cultures cellulaires font l'objet d'inspections visuelles quotidiennes.

Cellules HMC3 | 300102

Profil 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