Product sheet

Sel HMC3 | 300102

Informasi umum

Description	Garis sel Human Microglial Clone 3 (HMC3) dikembangkan pada tahun 1995 oleh tim Profesor Tardieu melalui imortalisasi sel mikroglial yang bergantung pada SV40 dari sumsum tulang belakang manusia dan jaringan kortikal, yang diperoleh dari embrio yang berusia antara 8 hingga 12 minggu. Sel-sel primer ini, yang ditandai dengan pembelahan yang lambat dan morfologi yang kompleks, pada awalnya dikultur selama 10-15 hari sebelum diimortalisasi. Sel-sel HMC3 mempertahankan beberapa fitur utama mikroglia primer, seperti ekspresi beragam penanda mieloid seperti CD68, CD11b, dan CD14, meskipun tingkat ekspresinya sangat bervariasi dengan pilihan antibodi primer, terutama untuk CD68. Setelah imortalisasi, sel HMC3 menunjukkan peningkatan tingkat proliferasi, dengan waktu penggandaan antara 24 dan 48 jam, sambil mempertahankan banyak karakteristik fenotipik dan morfologi dari rekan-rekan utama mereka. Secara khusus, terdapat proporsi yang lebih tinggi dari sel CD68 EBM/11-positif dan penurunan aktivitas fagositosis dibandingkan dengan sel primer. Stabilitas dalam ekspresi antigenik dikonfirmasi di seluruh 35 bagian, dengan sel-sel tetap positif untuk NSE, CD68, dan CD11b, tetapi negatif untuk CD14, MHCII, dan CD4 dalam kondisi awal. Namun, paparan interferon-γ (IFNγ) meningkatkan ekspresi MHCII, menyelaraskan lebih dekat dengan respons kultur primer terhadap perlakuan yang sama. Secara fungsional, garis HMC3 membedakan dirinya dengan memproduksi tingkat interleukin-6 (IL-6) yang lebih tinggi dalam kondisi basal dibandingkan dengan klon lain. Meskipun demikian, perbandingan langsung dengan produksi sitokin sel mikroglial primer tetap menantang karena perbedaan metodologis. Respons terhadap stimulasi lipopolisakarida (LPS) pada garis-garis yang diabadikan ini tampak berkurang dibandingkan dengan kultur primer. Konsisten dengan karakteristik mikroglia primer, HMC3 dan garis kloning lainnya tidak menghasilkan tumor necrosis factor-alpha (TNFα), baik secara spontan maupun setelah stimulasi proinflamasi, yang menyoroti sifat spesifik mikroglia embrionik manusia.
Organism	Manusia
Tissue	Otak janin
Applications	kultur sel 3D, Ilmu Saraf, Peradangan saraf
Synonyms	Klon Mikroglia Manusia 3, CHME-3, CHME3

Karakteristik

Age	Janin
Gender	Tidak ditentukan
Morphology	Makrofag
Cell type	Sel mikroglial

Sel HMC3 | 300102

Growth properties	Patuh

Data Peraturan

Citation	HMC3 (Nomor katalog Cytion 300102)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_II76
GMO Status	GMO-S1: Garis sel mikroglia otak janin manusia (HMC3) ini mengandung konstruk SV40 T-Antigen yang diperkenalkan melalui transfeksi, yang mendukung pengabadian. Sisipan ini secara stabil hadir dalam sel turunan mikroglia. Klasifikasi ini hanya berlaku di Jerman dan mungkin berbeda di tempat lain.

Data Biomolekuler

Viruses	Materi genetik SV40 terintegrasi secara stabil ke dalam genom sel. Tidak ada produksi aktif atau pelepasan partikel virus yang lengkap, yang mengurangi potensi masalah keamanan hayati.

Penanganan

Culture Medium	DMEM: Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/L Glukosa, w: 2,5 mM L-Glutamin, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM Natrium piruvat, w: 1,2 g/L NaHCO3 (Nomor artikel Cytion 820400a)
Supplements	Tambahkan media dengan 10% FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	24 dan 48 jam
Subculturing	Buang media lama dari sel yang melekat dan cuci dengan PBS yang tidak mengandung kalsium dan magnesium. Untuk labu T25, gunakan 3-5 ml PBS, dan untuk labu T75, gunakan 5-10 ml. Kemudian, tutupi sel sepenuhnya dengan Accutase, menggunakan 1-2 ml untuk labu T25 dan 2,5 ml untuk labu T75. Biarkan sel diinkubasi pada suhu kamar selama 8-10 menit untuk melepaskannya. Setelah inkubasi, campurkan sel secara perlahan dengan 10 ml medium untuk meresuspensi sel, kemudian sentrifugasi pada 300xg selama 3 menit. Buang supernatan, resuspensi sel dalam medium segar, dan pindahkan ke dalam labu baru yang sudah berisi medium segar.

Sel HMC3 | 300102

Freeze medium	Sebagai media kriopreservasi, kami menggunakan media pertumbuhan lengkap (termasuk FBS) + 10% DMSO untuk viabilitas pasca-pencairan yang memadai, atau CM-1 (nomor katalog Cytion 800100), yang mencakup osmoprotektan yang dioptimalkan dan penstabil metabolisme untuk meningkatkan pemulihan dan mengurangi stres yang diinduksi kriopreservasi.
Thawing and Culturing Cells	1. Pastikan botol tetap dalam keadaan beku pada saat pengiriman, karena sel dikirim dengan es kering untuk mempertahankan suhu optimal selama perjalanan. 2. Setelah diterima, segera simpan cryovial pada suhu di bawah -150°C untuk memastikan pelestarian integritas sel, atau lanjutkan ke langkah 3 jika kultur segera diperlukan. 3. Untuk kultur segera, segera cairkan botol dengan merendamnya dalam penangas air bersuhu 37°C dengan air bersih dan agen antimikroba, aduk perlahan selama 40-60 detik hingga gumpalan es kecil tetap ada. 4. Lakukan semua langkah selanjutnya dalam kondisi steril di dalam tudung alir, desinfektan kriovial dengan etanol 70% sebelum dibuka. 5. Buka botol yang telah didesinfeksi dengan hati-hati dan pindahkan suspensi sel ke dalam tabung sentrifugasi 15 ml yang berisi 8 ml media kultur suhu kamar, aduk perlahan. 6. Sentrifus campuran pada 300 x g selama 3 menit untuk memisahkan sel dan dengan hati-hati membuang supernatan yang mengandung sisa media pembekuan. 7. Resuspensi pelet sel dengan hati-hati dalam 10 ml medium kultur segar. Untuk sel yang melekat, bagi suspensi di antara dua labu kultur T25; untuk kultur suspensi, pindahkan semua media ke dalam satu labu T25 untuk mendorong interaksi dan pertumbuhan sel yang efektif. 8. Patuhi protokol subkultur yang telah ditetapkan untuk pertumbuhan dan pemeliharaan garis sel yang berkelanjutan, memastikan hasil eksperimental yang andal.
Incubation Atmosphere	37°C, 5%$_{CO2}$, atmosfer yang dilembabkan.
Flask Coating	Tidak ada
Freezing Procedure	Lini sel kriopreservasi dikirim di atas es kering dalam kemasan terisolasi yang divalidasi dengan refrigeran yang cukup untuk mempertahankan suhu sekitar -78 ° C selama perjalanan. Setelah diterima, segera periksa wadah dan pindahkan botol tanpa penundaan ke tempat penyimpanan yang sesuai.

Sel HMC3 | 300102

Shipping Conditions	Lini sel kriopreservasi dikirim di atas es kering dalam kemasan terisolasi yang divalidasi dengan refrigeran yang cukup untuk mempertahankan suhu sekitar -78 ° C selama perjalanan. Setelah diterima, segera periksa wadah dan pindahkan botol tanpa penundaan ke tempat penyimpanan yang sesuai.
Storage Conditions	Untuk pengawetan jangka panjang, tempatkan botol dalam nitrogen cair fase uap pada suhu sekitar -150 hingga -196 °C. Penyimpanan pada suhu -80 °C hanya dapat diterima sebagai langkah sementara sebelum dipindahkan ke nitrogen cair.

Pengendalian Mutu & Analisis Molekuler

Sterility	Kontaminasi mikoplasma disingkirkan dengan menggunakan tes berbasis PCR dan metode deteksi mikoplasma berbasis pendaran. Untuk memastikan tidak ada kontaminasi bakteri, jamur, atau ragi, kultur sel menjalani inspeksi visual setiap hari.