Product sheet

Cellule HMC3 | 300102

Informazioni generali

Description	La linea cellulare Human Microglial Clone 3 (HMC3) è stata sviluppata nel 1995 dall'équipe del professor Tardieu attraverso l'immortalizzazione SV40-dipendente di cellule microgliali provenienti da tessuti spinali e corticali umani, ottenuti da embrioni di età compresa tra 8 e 12 settimane. Queste cellule primarie, caratterizzate da una divisione lenta e da una morfologia complessa, sono state inizialmente coltivate per 10-15 giorni prima dell'immortalizzazione. Le cellule HMC3 hanno mantenuto diverse caratteristiche chiave delle microglia primarie, come la diversa espressione di marcatori mieloidi come CD68, CD11b e CD14, anche se i livelli di espressione variavano notevolmente con la scelta dell'anticorpo primario, in particolare per il CD68. Dopo l'immortalizzazione, le cellule HMC3 hanno mostrato tassi di proliferazione più elevati, con tempi di raddoppio compresi tra 24 e 48 ore, pur conservando molte caratteristiche fenotipiche e morfologiche delle loro controparti primarie. In particolare, è stata riscontrata una maggiore proporzione di cellule CD68 EBM/11-positive e una riduzione dell'attività fagocitaria rispetto alle cellule primarie. La stabilità dell'espressione antigenica è stata confermata attraverso 35 passaggi: le cellule sono rimaste positive per NSE, CD68 e CD11b, ma negative per CD14, MHCII e CD4 in condizioni di base. Tuttavia, l'esposizione all'interferone-γ (IFNγ) ha aumentato l'espressione di MHCII, allineandosi maggiormente alle risposte delle colture primarie allo stesso trattamento. Dal punto di vista funzionale, la linea HMC3 si è distinta per la produzione di livelli più elevati di interleuchina-6 (IL-6) in condizioni basali rispetto agli altri cloni. Nonostante ciò, un confronto diretto con la produzione di citochine delle cellule microgliali primarie rimane difficile a causa delle differenze metodologiche. La risposta alla stimolazione con lipopolisaccaridi (LPS) in queste linee immortalizzate è apparsa ridotta rispetto alle colture primarie. Coerentemente con le caratteristiche delle microglia primarie, le linee HMC3 e le altre linee clonate non hanno prodotto il fattore di necrosi tumorale alfa (TNFα), né spontaneamente né in seguito a stimolazione pro-infiammatoria, evidenziando una caratteristica specifica delle microglia embrionali umane.
Organism	Umano
Tissue	Cervello fetale
Applications	coltura cellulare 3D, Neuroscienze, Neuroinfiammazione
Synonyms	Clone 3 della microglia umana, CHME-3, CHME3

Caratteristiche

Age	Feto
Gender	Non specificato
Morphology	Macrofago
Cell type	Cellula microgliale

Cellule HMC3 | 300102

Growth properties	Aderente

Dati normativi

Citation	HMC3 (numero di catalogo Cytion 300102)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_II76
GMO Status	GMO-S1: Questa linea cellulare di microglia cerebrale fetale umana (HMC3) contiene un costrutto SV40 T-Antigen introdotto mediante trasfezione, che supporta l'immortalizzazione. L'inserto è stabilmente presente nelle cellule derivate dalla microglia. Questa classificazione si applica solo in Germania e può differire altrove.

Dati biomolecolari

Viruses	Il materiale genetico di SV40 è integrato in modo stabile nel genoma della cellula. Non vi è produzione attiva o rilascio di particelle virali complete, il che attenua i potenziali problemi di biosicurezza.

Manipolazione

Culture Medium	DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/L di glucosio, w: 2,5 mM di L-Glutammina, w: 15 mM di HEPES, w: 0,5 mM di Sodio piruvato, w: 1,2 g/L di NaHCO3 (articolo Cytion numero 820400a)
Supplements	Integrare il terreno di coltura con il 10% di FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	24 e 48 ore
Subculturing	Rimuovere il vecchio terreno dalle cellule aderenti e lavarle con PBS privo di calcio e magnesio. Per le fiasche T25, utilizzare 3-5 ml di PBS e per le fiasche T75, 5-10 ml. Quindi, coprire completamente le cellule con Accutase, utilizzando 1-2 ml per le fiasche T25 e 2,5 ml per le fiasche T75. Lasciare incubare le cellule a temperatura ambiente per 8-10 minuti per staccarle. Dopo l'incubazione, mescolare delicatamente le cellule con 10 ml di terreno per risospenderle, quindi centrifugare a 300xg per 3 minuti. Scartare il surnatante, risospendere le cellule in terreno fresco e trasferirle in nuove fiasche contenenti terreno fresco.

Cellule HMC3 | 300102

Freeze medium	Come terreno di crioconservazione, utilizziamo un terreno di crescita completo (incluso FBS) + 10% DMSO per un'adeguata vitalità post-scongelamento, o CM-1 (numero di catalogo Cytion 800100), che include osmoprotettori e stabilizzatori metabolici ottimizzati per migliorare il recupero e ridurre lo stress crio-indotto.
Thawing and Culturing Cells	1. Verificare che la fiala rimanga profondamente congelata al momento della consegna, poiché le cellule vengono spedite con ghiaccio secco per mantenere le temperature ottimali durante il trasporto. 2. Al ricevimento, conservare immediatamente la criovial a temperature inferiori a -150°C per garantire la conservazione dell'integrità cellulare, oppure procedere al punto 3 se è necessaria una coltura immediata. 3. Per la coltura immediata, scongelare rapidamente la fiala immergendola in un bagno d'acqua a 37°C con acqua pulita e un agente antimicrobico, agitando delicatamente per 40-60 secondi finché non rimane un piccolo grumo di ghiaccio. 4. Eseguire tutte le fasi successive in condizioni di sterilità in una cappa a flusso, disinfettando la criovial con etanolo al 70% prima dell'apertura. 5. Aprire con cautela la fiala disinfettata e trasferire la sospensione cellulare in una provetta da centrifuga da 15 ml contenente 8 ml di terreno di coltura a temperatura ambiente, mescolando delicatamente. 6. Centrifugare la miscela a 300 x g per 3 minuti per separare le cellule e scartare con cura il surnatante contenente il terreno di coltura residuo. 7. Risospendere delicatamente il pellet cellulare in 10 ml di terreno di coltura fresco. Per le cellule aderenti, dividere la sospensione tra due fiasche di coltura T25; per le colture in sospensione, trasferire tutto il terreno in una fiasca T25 per promuovere l'interazione e la crescita delle cellule. 8. Attenersi ai protocolli di subcoltura stabiliti per la crescita e il mantenimento continui della linea cellulare, garantendo risultati sperimentali affidabili.
Incubation Atmosphere	37°C, 5%$_{CO2}$, atmosfera umidificata.
Flask Coating	Nessuno
Freezing Procedure	Le linee cellulari crioconservate vengono spedite su ghiaccio secco in confezioni isolate e convalidate, con una quantità di refrigerante sufficiente a mantenere circa -78 °C durante il trasporto. Al ricevimento, ispezionare immediatamente il contenitore e trasferire immediatamente le fiale in un luogo di conservazione appropriato.

Cellule HMC3 | 300102

Shipping Conditions	Le linee cellulari crioconservate vengono spedite su ghiaccio secco in confezioni isolate e convalidate, con una quantità di refrigerante sufficiente a mantenere circa -78 °C durante il trasporto. Al ricevimento, ispezionare immediatamente il contenitore e trasferire immediatamente le fiale in un luogo di conservazione appropriato.
Storage Conditions	Per la conservazione a lungo termine, porre le fiale in azoto liquido in fase vapore a una temperatura compresa tra -150 e -196 °C circa. La conservazione a -80 °C è accettabile solo come breve fase intermedia prima del trasferimento in azoto liquido.

Controllo qualità e analisi molecolare

Sterility	La contaminazione da micoplasma viene esclusa utilizzando sia saggi basati sulla PCR sia metodi di rilevamento del micoplasma basati sulla luminescenza. Per garantire l'assenza di contaminazione batterica, fungina o da lieviti, le colture cellulari sono sottoposte a ispezioni visive quotidiane.
Profilo 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