Product sheet

HMC3-cellen | 300102

Algemene informatie

Description	De humane microgliale kloon 3 (HMC3) cellijn werd in 1995 ontwikkeld door het team van professor Tardieu door middel van SV40-afhankelijke immortalisatie van microgliale cellen uit menselijk ruggenmerg en corticaal weefsel, verkregen uit embryo's van 8 tot 12 weken oud. Deze primaire cellen, gekenmerkt door een langzame deling en een complexe morfologie, werden eerst 10-15 dagen gekweekt voordat ze geïmmortaliseerd werden. De HMC3 cellen behielden verschillende belangrijke kenmerken van primaire microglia, zoals een diverse expressie van myeloïde markers zoals CD68, CD11b en CD14, hoewel de expressieniveaus sterk varieerden met de keuze van het primaire antilichaam, vooral voor CD68. Na immortalisatie vertoonden de HMC3 cellen een verhoogde proliferatie, met verdubbeltijden tussen 24 en 48 uur, terwijl ze veel fenotypische en morfologische kenmerken van hun primaire tegenhangers behielden. Er was met name een hoger aandeel CD68 EBM/11-positieve cellen en een vermindering in fagocytische activiteit vergeleken met de primaire cellen. Stabiliteit in antigenexpressie werd bevestigd over 35 passages, waarbij de cellen positief bleven voor NSE, CD68 en CD11b, maar negatief voor CD14, MHCII en CD4 onder basiscondities. Blootstelling aan interferon-γ (IFNγ) verhoogde echter de MHCII-expressie, wat beter overeenkomt met de reacties van primaire culturen op dezelfde behandeling. Functioneel onderscheidde de HMC3-lijn zich door hogere niveaus van interleukine-6 (IL-6) te produceren onder basale omstandigheden in vergelijking met andere klonen. Desondanks blijft een directe vergelijking met de cytokineproductie van primaire microgliacellen lastig vanwege methodologische verschillen. De respons op lipopolysaccharide (LPS) stimulatie in deze geïmmortaliseerde lijnen bleek verminderd ten opzichte van primaire culturen. In overeenstemming met de kenmerken van primaire microglia produceerden de HMC3- en andere gekloonde lijnen geen tumornecrosefactor-alfa (TNFα), noch spontaan noch na pro-inflammatoire stimulatie, wat een specifieke eigenschap van menselijke embryonale microglia benadrukt.
Organism	Mens
Tissue	Foetale hersenen
Applications	3D celkweek, Neurowetenschappen, Neuroinflamatie
Synonyms	Menselijke microglia kloon 3, CHME-3, CHME3

Kenmerken

Age	Foetus
Gender	Ongespecificeerd
Morphology	Macrofaag
Cell type	Microgliale cel

HMC3-cellen | 300102

Growth properties	Aanhangend

Regelgevende gegevens

Citation	HMC3 (Cytion catalogusnummer 300102)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_II76
GMO Status	GMO-S1: Deze cellijn van menselijke foetale hersenmicroglia (HMC3) bevat een SV40 T-antigeen construct geïntroduceerd door transfectie, waardoor immortalisatie wordt ondersteund. Het insert is stabiel aanwezig in microglia-afgeleide cellen. Deze classificatie geldt alleen binnen Duitsland en kan elders afwijken.

Biomoleculaire gegevens

Viruses	Het genetisch materiaal van SV40 is stabiel geïntegreerd in het celgenoom. Er vindt geen actieve productie of afgifte van complete virusdeeltjes plaats, wat mogelijke zorgen over bioveiligheid vermindert.

Omgaan met

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 Natriumpyruvaat, w: 1,2 g/L NaHCO3 (Cytion artikelnummer 820400a)
Supplements	Vul het medium aan met 10% FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	24 en 48 uur
Subculturing	Verwijder het oude medium van de adherente cellen en was ze met PBS zonder calcium en magnesium. Gebruik voor T25-flesjes 3-5 ml PBS en voor T75-flesjes 5-10 ml. Bedek de cellen vervolgens volledig met Accutase, met 1-2 ml voor T25-flesjes en 2,5 ml voor T75-flesjes. Laat de cellen gedurende 8-10 minuten bij kamertemperatuur incuberen om ze los te maken. Na incubatie de cellen voorzichtig mengen met 10 ml medium om ze te resuspenderen en vervolgens centrifugeren bij 300xg gedurende 3 minuten. Gooi het supernatant weg, resuspendeer de cellen in vers medium en breng ze over in nieuwe kolven die al vers medium bevatten.

HMC3-cellen | 300102

Freeze medium	Als cryoconserveringsmedium gebruiken we volledig groeimedium (inclusief FBS) + 10% DMSO voor voldoende levensvatbaarheid na het ontdooien, of CM-1 (Cytion catalogusnummer 800100), dat geoptimaliseerde osmoprotectanten en metabolische stabilisatoren bevat om het herstel te verbeteren en door cryo geïnduceerde stress te verminderen.
Thawing and Culturing Cells	1. Controleer of de flacon bij levering diepgevroren blijft, aangezien de cellen op droog ijs worden verzonden om optimale temperaturen tijdens het transport te behouden. 2. Bewaar het cryoflesje na ontvangst onmiddellijk bij temperaturen lager dan -150 °C om de integriteit van de cellen te behouden, of ga verder met stap 3 als onmiddellijke kweek vereist is. 3. Voor onmiddellijke kweek: ontdooi de flacon snel door deze onder te dompelen in een waterbad van 37 °C met schoon water en een antimicrobieel middel, waarbij u 40-60 seconden zachtjes schudt totdat er een klein ijsklontje overblijft. 4. Voer alle volgende stappen uit onder steriele omstandigheden in een stromingskap en desinfecteer de cryoflacon met 70% ethanol voordat deze wordt geopend. 5. Open voorzichtig de gedesinfecteerde flacon en breng de celsuspensie over in een centrifugebuis van 15 ml met 8 ml kweekmedium op kamertemperatuur en meng voorzichtig. 6. Centrifugeer het mengsel gedurende 3 minuten bij 300 x g om de cellen te scheiden en gooi het supernatant met resterend vriesmedium voorzichtig weg. 7. Resuspendeer de celpellet voorzichtig in 10 ml vers kweekmedium. Verdeel voor adherente cellen de suspensie over twee T25-kweekkolven; breng voor suspensiekweken al het medium over in één T25-kweekkolf om effectieve celinteractie en -groei te bevorderen. 8. Houd u aan de vastgestelde subcultuurprotocollen voor continue groei en onderhoud van de cellijn, om betrouwbare experimentele resultaten te garanderen.
Incubation Atmosphere	37°C, 5%$_{CO2}$, bevochtigde atmosfeer.
Flask Coating	Geen
Freezing Procedure	Gecryopreserveerde cellijnen worden verzonden op droog ijs in gevalideerde, geïsoleerde verpakkingen met voldoende koelmiddel om gedurende het transport ongeveer -78 °C te handhaven. Inspecteer de verpakking onmiddellijk na ontvangst en breng de flacons onverwijld over naar de juiste opslagplaats.

HMC3-cellen | 300102

Shipping Conditions	Gecryopreserveerde cellijnen worden verzonden op droog ijs in gevalideerde, geïsoleerde verpakkingen met voldoende koelmiddel om gedurende het transport ongeveer -78 °C te handhaven. Inspecteer de verpakking onmiddellijk na ontvangst en breng de flacons onverwijld over naar de juiste opslagplaats.
Storage Conditions	Voor langdurige bewaring plaatst u flesjes in vloeibare stikstof in dampfase bij ongeveer -150 tot -196 °C. Opslag bij -80 °C is alleen aanvaardbaar als korte tussenstap vóór overbrenging naar vloeibare stikstof.

Kwaliteitscontrole en moleculaire analyse

Sterility	Mycoplasmaverontreiniging wordt uitgesloten met zowel PCR-gebaseerde testen als op luminescentie gebaseerde mycoplasmadetectiemethoden. Om er zeker van te zijn dat er geen besmetting is met bacteriën, schimmels of gisten, worden de celculturen dagelijks onderworpen aan visuele inspecties.
STR profiel	**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