

Células HMC3 | 300102

Informações gerais

Description

A linha celular Human Microglial Clone 3 (HMC3) foi desenvolvida em 1995 pela equipa do Professor Tardieu através da imortalização dependente de SV40 de células microgliais de tecidos da medula espinal e corticais humanos, obtidos de embriões com idades compreendidas entre as 8 e as 12 semanas. Estas células primárias, caracterizadas por uma divisão lenta e morfologias complexas, foram inicialmente cultivadas durante 10-15 dias antes da imortalização. As células HMC3 mantiveram várias características-chave da microglia primária, tais como uma expressão diversificada de marcadores mielóides como CD68, CD11b e CD14, embora os níveis de expressão variassem notavelmente com a escolha do anticorpo primário, particularmente para CD68.

Após a imortalização, as células HMC3 exibiram taxas de proliferação melhoradas, com tempos de duplicação entre 24 e 48 horas, preservando ao mesmo tempo muitas características fenotípicas e morfológicas das suas contrapartes primárias. Em particular, verificou-se uma maior proporção de células positivas para CD68 EBM/11 e uma redução da atividade fagocítica em comparação com as células primárias. A estabilidade na expressão antigénica foi confirmada ao longo de 35 passagens, com as células a permanecerem positivas para NSE, CD68 e CD11b, mas negativas para CD14, MHCII e CD4 em condições de base. No entanto, a exposição ao interferão- γ (IFN γ) elevou a expressão de MHCII, alinhando-se mais estreitamente com as respostas da cultura primária ao mesmo tratamento.

Funcionalmente, a linha HMC3 distinguiu-se pela produção de níveis mais elevados de interleucina-6 (IL-6) em condições basais, em comparação com outros clones. Apesar disso, uma comparação direta com a produção de citocinas das células microgliais primárias continua a ser um desafio devido a diferenças metodológicas. A resposta à estimulação com lipopolissacárido (LPS) nestas linhas imortalizadas parece estar diminuída em relação às culturas primárias. Em consonância com as características microgliais primárias, a HMC3 e outras linhas clonadas não produziram fator de necrose tumoral alfa (TNF α), quer espontaneamente quer após estimulação pró-inflamatória, salientando uma característica específica da microglia embrionária humana.

Organism Humano

Tissue Cérebro fetal

Applications cultura de células 3D, Neurociência, Neuroinflamação

Synonyms Clone 3 de microglia humana, CHME-3, CHME3

Caraterísticas

Age Feto

Gender Não especificado

Morphology Macrófago

Cell type Célula microglial

Células HMC3 | 300102

Growth properties Aderente

Dados regulamentares

Citation HMC3 (número de catálogo Cytion 300102)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_I176

GMO Status GMO-S1: Esta linha de células da microglia do cérebro fetal humano (HMC3) contém uma construção do antigénio T do SV40 introduzida por transfecção, que suporta a imortalização. A inserção está presente de forma estável nas células derivadas da microglia. Esta classificação aplica-se apenas na Alemanha e pode ser diferente noutros países.

Dados biomoleculares

Viruses O material genético do SV40 é integrado de forma estável no genoma da célula. Não há produção ativa ou libertação de partículas virais completas, o que atenua potenciais preocupações de biossegurança.

Manuseamento

Culture Medium DMEM:Ham's F12 (1:1), com: 3,1 g/L de glucose, com: 2,5 mM de L-Glutamina, com: 15 mM de HEPES, com: 0,5 mM de piruvato de sódio, com: 1,2 g/L de NaHCO₃ (número de artigo Cytion 820400a)

Supplements Completar o meio com 10% de FBS

Dissociation Reagent Accutase

Doubling time 24 e 48 horas

Subculturing Retirar o meio antigo das células aderentes e lavá-las com PBS sem cálcio e magnésio. Nos frascos T25, utilizar 3-5 ml de PBS e, nos frascos T75, 5-10 ml. Em seguida, cobrir completamente as células com Accutase, utilizando 1-2 ml para os frascos T25 e 2,5 ml para os frascos T75. Deixar as células incubar à temperatura ambiente durante 8-10 minutos para as destacar. Após a incubação, misturar suavemente as células com 10 ml de meio para as ressuspender e, em seguida, centrifugar a 300xg durante 3 minutos. Deitar fora o sobrenadante, ressuspender as células em meio fresco e transferi-las para novos frascos que já contenham meio fresco.

Células HMC3 | 300102

Freeze medium

Como meio de criopreservação, utilizamos um meio de crescimento completo (incluindo FBS) + 10% DMSO para uma viabilidade pós-descongelamento adequada, ou CM-1 (número de catálogo Cytion 800100), que inclui osmoprotectores otimizados e estabilizadores metabólicos para melhorar a recuperação e reduzir o stress induzido pela crio.

Thawing and Culturing Cells

1. Confirme que o frasco permanece profundamente congelado aquando da entrega, uma vez que as células são enviadas em gelo seco para manter as temperaturas ideais durante o transporte.
2. Após a receção, armazenar o frasco criogénico imediatamente a temperaturas inferiores a -150°C para garantir a preservação da integridade celular, ou avançar para o passo 3 se for necessária uma cultura imediata.
3. Para uma cultura imediata, descongelar rapidamente o frasco imergindo-o num banho de água a 37°C com água limpa e um agente antimicrobiano, agitando suavemente durante 40-60 segundos até ficar um pequeno aglomerado de gelo.
4. Efetuar todos os passos subsequentes em condições estéreis numa capela de fluxo, desinfetando o frasco criogénico com etanol a 70% antes de o abrir.
5. Abrir cuidadosamente o frasco desinfetado e transferir a suspensão de células para um tubo de centrifugação de 15 ml contendo 8 ml de meio de cultura à temperatura ambiente, misturando suavemente.
6. Centrifugar a mistura a $300 \times g$ durante 3 minutos para separar as células e eliminar cuidadosamente o sobrenadante que contém o meio de congelação residual.
7. Ressuspender suavemente o pellet de células em 10 ml de meio de cultura fresco. No caso de células aderentes, dividir a suspensão entre dois frascos de cultura T25; no caso de culturas em suspensão, transferir todo o meio para um frasco T25 para promover uma interação e um crescimento eficazes das células.
8. Cumprir os protocolos de subcultura estabelecidos para o crescimento e manutenção contínuos da linha celular, garantindo resultados experimentais fiáveis.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , atmosfera humidificada.

Flask Coating

Para uma fixação e viabilidade óptimas após a descongelação, recomendamos a utilização de **frascos ou placas revestidos com colagénio**.

Células HMC3 | 300102

Freezing Procedure

As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente -78 °C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

Shipping Conditions

As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente -78 °C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

Storage Conditions

Para conservação a longo prazo, colocar os frascos em azoto líquido em fase de vapor a uma temperatura entre -150 e -196 °C. O armazenamento a -80 °C é aceitável apenas como um curto passo intermédio antes da transferência para azoto líquido.

Controlo de qualidade / Perfil genético / HLA

Sterility

A contaminação por micoplasma é excluída utilizando ensaios baseados em PCR e métodos de deteção de micoplasma baseados em luminescência.

Para garantir que não há contaminação bacteriana, fúngica ou de leveduras, as culturas de células são sujeitas a inspecções visuais diárias.

Perfil 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