Product sheet

Celule HMC3 | 300102

Informații generale

Description	Linia celulară Human Microglial Clone 3 (HMC3) a fost dezvoltată în 1995 de echipa profesorului Tardieu prin imortalizarea dependentă de SV40 a celulelor microgliale din măduva spinării și țesuturile corticale umane, obținute de la embrioni cu vârsta cuprinsă între 8 și 12 săptămâni. Aceste celule primare, caracterizate prin diviziune lentă și morfologii complexe, au fost cultivate inițial timp de 10-15 zile înainte de imortalizare. Celulele HMC3 au păstrat mai multe caracteristici cheie ale microgliei primare, cum ar fi o expresie diversă a markerilor mieloizi precum CD68, CD11b și CD14, deși nivelurile de expresie au variat semnificativ în funcție de alegerea anticorpului primar, în special pentru CD68. După imortalizare, celulele HMC3 au prezentat rate de proliferare crescute, cu timpi de dublare între 24 și 48 de ore, păstrând în același timp multe caracteristici fenotipice și morfologice ale omologilor lor primari. În special, a existat o proporție mai mare de celule CD68 EBM/11-pozitive și o reducere a activității fagocitare în comparație cu celulele primare. Stabilitatea expresiei antigenice a fost confirmată în 35 de treceri, celulele rămânând pozitive pentru NSE, CD68 și CD11b, dar negative pentru CD14, MHCII și CD4 în condiții de bază. Cu toate acestea, expunerea la interferon-γ (IFNγ) a crescut expresia MHCII, aliniindu-se mai strâns cu răspunsurile culturii primare la același tratament. Din punct de vedere funcțional, linia HMC3 s-a distins prin producerea unor niveluri mai ridicate de interleukină-6 (IL-6) în condiții bazale comparativ cu alte clone. În ciuda acestui fapt, o comparație directă cu producția de citokine a celulelor microgliale primare rămâne dificilă din cauza diferențelor metodologice. Răspunsul la stimularea cu lipopolizaharidă (LPS) în aceste linii imortalizate a părut diminuat în raport cu culturile primare. În concordanță cu caracteristicile microgliale primare, liniile HMC3 și alte linii clonate nu au produs factor de necroză tumorală alfa (TNFα), nici spontan, nici în urma stimulării proinflamatorii, subliniind o trăsătură specifică a microgliei embrionare umane.
Organism	Om
Tissue	Creierul fetal
Applications	cultură celulară 3D, Neuroștiință, Neuroinflamare
Synonyms	Microglia umană clonă 3, CHME-3, CHME3

Caracteristici

Age	Fetusul
Gender	Nespecificat
Morphology	Macrofage
Cell type	Celulă microglială

Celule HMC3 | 300102

Growth properties	Aderent

Date de reglementare

Citation	HMC3 (număr de catalog Cytion 300102)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_II76
GMO Status	OMG-S1: Această linie celulară de microglie din creierul fetal uman (HMC3) conține o construcție de antigen T SV40 introdusă prin transfecție, care susține imortalizarea. Inserția este prezentă în mod stabil în celulele derivate din microglie. Această clasificare se aplică numai în Germania și poate diferi în alte părți.

Date biomoleculare

Viruses	Materialul genetic SV40 este integrat în mod stabil în genomul celular. Nu există producție activă sau eliberare de particule virale complete, ceea ce atenuează potențialele probleme de biosecuritate.

Manipulare

Culture Medium	DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/L Glucoză, w: 2,5 mM L-Glutamină, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM Piruvat de sodiu, w: 1,2 g/L NaHCO3 (număr articol Cytion 820400a)
Supplements	Suplimentați mediul cu 10% FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	24 și 48 de ore
Subculturing	Îndepărtați mediul vechi de pe celulele aderente și spălați-le cu PBS care nu conține calciu și magneziu. Pentru flacoanele T25, se utilizează 3-5 ml de PBS, iar pentru flacoanele T75, 5-10 ml. Apoi, se acoperă celulele complet cu Accutase, folosind 1-2 ml pentru flacoanele T25 și 2,5 ml pentru flacoanele T75. Lăsați celulele la incubare la temperatura camerei timp de 8-10 minute pentru a le detașa. După incubare, amestecați ușor celulele cu 10 ml de mediu pentru a le resuspenda, apoi centrifugați la 300xg timp de 3 minute. Aruncați supernatantul, resuspendați celulele în mediu proaspăt și transferați-le în flacoane noi care conțin deja mediu proaspăt.

Celule HMC3 | 300102

Freeze medium	Ca mediu de crioconservare, folosim mediu de creștere complet (inclusiv FBS) + 10% DMSO pentru o viabilitate adecvată după dezghețare sau CM-1 (număr de catalog Cytion 800100), care include osmoprotectanți optimizați și stabilizatori metabolici pentru a spori recuperarea și a reduce stresul indus de criogenie.
Thawing and Culturing Cells	1. Confirmați că flaconul rămâne profund înghețat la livrare, deoarece celulele sunt expediate pe gheață carbonică pentru a menține temperaturi optime în timpul transportului. 2. La primire, fie depozitați crioviola imediat la temperaturi sub -150 °C pentru a asigura păstrarea integrității celulare, fie treceți la etapa 3 dacă este necesară cultivarea imediată. 3. Pentru cultivarea imediată, dezghețați rapid flaconul prin scufundarea acestuia într-o baie de apă la 37 °C cu apă curată și un agent antimicrobian, agitându-l ușor timp de 40-60 de secunde până când rămâne o mică aglomerare de gheață. 4. Se efectuează toate etapele ulterioare în condiții sterile, într-o hotă cu flux, dezinfectând crioviola cu etanol 70% înainte de deschidere. 5. Se deschide cu grijă flaconul dezinfectat și se transferă suspensia celulară într-un tub de centrifugare de 15 ml care conține 8 ml de mediu de cultură la temperatura camerei, amestecând ușor. 6. Se centrifughează amestecul la 300 x g timp de 3 minute pentru a separa celulele și se aruncă cu grijă supernatantul care conține mediul de congelare rezidual. 7. Se resuspendă ușor peletul celular în 10 ml de mediu de cultură proaspăt. Pentru celulele aderente, împărțiți suspensia între două flacoane de cultură T25; pentru culturile în suspensie, transferați tot mediul într-un flacon T25 pentru a promova interacțiunea și creșterea celulară eficientă. 8. Respectați protocoalele de subcultură stabilite pentru creșterea și menținerea continuă a liniei celulare, asigurând rezultate experimentale fiabile.
Incubation Atmosphere	37°C, 5% $_{CO2}$, atmosferă umidificată.
Flask Coating	Niciuna
Freezing Procedure	Liniile celulare crioconservate sunt expediate pe gheață carbonică în ambalaje izolate, validate, cu suficient agent frigorific pentru a menține aproximativ -78 °C pe toată durata transportului. La primire, se inspectează imediat recipientul și se transferă fără întârziere fiolele în depozitul corespunzător.

Celule HMC3 | 300102

Shipping Conditions	Liniile celulare crioconservate sunt expediate pe gheaţă carbonică în ambalaje izolate, validate, cu suficient agent frigorific pentru a menţine aproximativ -78 °C pe toată durata transportului. La primire, se inspectează imediat recipientul şi se transferă fără întârziere fiolele în depozitul corespunzător.
Storage Conditions	Pentru conservarea pe termen lung, flacoanele se plasează în azot lichid în fază de vapori la o temperatură cuprinsă între -150 şi -196 °C. Păstrarea la -80 °C este acceptabilă doar ca o scurtă etapă intermediară înainte de transferul în azot lichid.

Controlul calităţii şi analiza moleculară

Sterility	Contaminarea cu micoplasmă este exclusă utilizând atât teste bazate pe PCR, cât şi metode de detectare a micoplasmei bazate pe luminescenţă. Pentru a se asigura că nu există contaminare bacteriană, fungică sau de drojdie, culturile celulare sunt supuse unor inspecţii vizuale zilnice.