Product sheet

HMC3-celler | 300102

Allmän information

Description	Cellinjen Human Microglial Clone 3 (HMC3) utvecklades 1995 av professor Tardieus team genom SV40-beroende immortalisering av mikrogliaceller från mänsklig ryggmärg och kortikala vävnader, erhållna från embryon som var mellan 8 och 12 veckor gamla. Dessa primära celler, som kännetecknas av långsam delning och komplexa morfologier, odlades inledningsvis i 10-15 dagar innan de odödliggjordes. HMC3-cellerna behöll flera viktiga egenskaper hos primära mikroglia, såsom ett varierat uttryck av myeloida markörer som CD68, CD11b och CD14, även om uttrycksnivåerna varierade avsevärt med valet av primär antikropp, särskilt för CD68. Efter odödliggörandet uppvisade HMC3-cellerna en ökad proliferationshastighet, med fördubblingstider på mellan 24 och 48 timmar, samtidigt som de bevarade många fenotypiska och morfologiska egenskaper hos sina primära motsvarigheter. Framför allt fanns det en högre andel CD68 EBM/11-positiva celler och en minskning av den fagocyterande aktiviteten jämfört med de primära cellerna. Stabiliteten i det antigena uttrycket bekräftades efter 35 passager, där cellerna förblev positiva för NSE, CD68 och CD11b, men negativa för CD14, MHCII och CD4 under baslinjeförhållanden. Exponering för interferon-γ (IFNγ) ökade dock MHCII-uttrycket, vilket stämmer bättre överens med primärkulturens svar på samma behandling. Funktionellt utmärkte sig HMC3-linjen genom att producera högre nivåer av interleukin-6 (IL-6) under basala förhållanden jämfört med andra kloner. Trots detta är en direkt jämförelse med primära mikrogliacellers cytokinproduktion fortfarande en utmaning på grund av metodologiska skillnader. Svaret på lipopolysackarid (LPS)-stimulering i dessa odödliga linjer verkade vara mindre än i primära kulturer. I överensstämmelse med primära mikrogliala egenskaper producerade HMC3 och andra klonade linjer inte tumörnekrosfaktor-alfa (TNFα), varken spontant eller efter proinflammatorisk stimulering, vilket belyser ett specifikt drag hos humana embryonala mikroglia.
Organism	Människan
Tissue	Hjärnan hos fostret
Applications	3D-cellodling, Neurovetenskap, Neuroinflamation
Synonyms	Human Microglia klon 3, CHME-3, CHME3

Egenskaper

Age	Foster
Gender	Ospecificerad
Morphology	Makrofag
Cell type	Mikroglial cell

HMC3-celler | 300102

Growth properties	Följsam

Lagstadgade uppgifter

Citation	HMC3 (Cytion katalognummer 300102)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_II76
GMO Status	GMO-S1: Denna cellinje av mikrogliaceller från mänskligt hjärnfoster (HMC3) innehåller en SV40 T-Antigen-konstruktion som införts genom transfektion, vilket stöder odödlighet. Insatsen är stabilt närvarande i mikroglia-deriverade celler. Denna klassificering gäller endast i Tyskland och kan skilja sig åt på andra ställen.

Biomolekylära data

Viruses	SV40:s genetiska material är stabilt integrerat i cellgenomet. Det sker ingen aktiv produktion eller frisättning av kompletta viruspartiklar, vilket minskar potentiella problem med biosäkerhet.

Hantering

Culture Medium	DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/L glukos, w: 2,5 mM L-glutamin, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM natriumpyruvat, w: 1,2 g/L NaHCO3 (Cytion artikelnummer 820400a)
Supplements	Komplettera mediet med 10% FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	24 och 48 timmar
Subculturing	Ta bort det gamla mediet från de adherenta cellerna och tvätta dem med PBS som saknar kalcium och magnesium. Använd 3-5 ml PBS för T25-kolvar och 5-10 ml för T75-kolvar. Täck sedan cellerna helt med Accutase, använd 1-2 ml för T25-kolvar och 2,5 ml för T75-kolvar. Låt cellerna inkubera i rumstemperatur i 8-10 minuter så att de lossnar. Efter inkubationen, blanda cellerna försiktigt med 10 ml medium för att resuspendera dem och centrifugera sedan vid 300xg i 3 minuter. Kassera supernatanten, resuspendera cellerna i färskt medium och överför dem till nya kolvar som redan innehåller färskt medium.

HMC3-celler | 300102

Freeze medium	Som kryokonserveringsmedium använder vi komplett tillväxtmedium (inklusive FBS) + 10% DMSO för adekvat viabilitet efter upptining, eller CM-1 (Cytion katalognummer 800100), som innehåller optimerade osmoprotektanter och metaboliska stabilisatorer för att förbättra återhämtningen och minska kryoinducerad stress.
Thawing and Culturing Cells	1. Bekräfta att flaskan är djupfryst vid leverans, eftersom cellerna skickas på torris för att bibehålla optimala temperaturer under transporten. 2. Vid mottagandet ska du antingen förvara kryovialen omedelbart vid temperaturer under -150 °C för att säkerställa att cellernas integritet bevaras, eller gå vidare till steg 3 om omedelbar odling krävs. 3. Vid omedelbar odling ska injektionsflaskan snabbt tinas genom att den sänks ned i ett 37 °C vattenbad med rent vatten och ett antimikrobiellt medel och omrörs försiktigt i 40-60 sekunder tills en liten isklump återstår. 4. Utför alla efterföljande steg under sterila förhållanden i en flödeshuv och desinficera kryovialerna med 70 % etanol innan de öppnas. 5. Öppna försiktigt den desinficerade flaskan och överför cellsuspensionen till ett 15 ml centrifugrör som innehåller 8 ml rumstempererat odlingsmedium och blanda försiktigt. 6. Centrifugera blandningen vid 300 x g i 3 minuter för att separera cellerna och kassera försiktigt supernatanten som innehåller resterande frysmedium. 7. Resuspendera försiktigt cellpelleten i 10 ml färskt odlingsmedium. För adherenta celler, fördela suspensionen mellan två T25-kulturkolvar; för suspensionskulturer, överför allt medium till en T25-kolv för att främja effektiv cellinteraktion och tillväxt. 8. Följ fastställda subkulturprotokoll för fortsatt tillväxt och underhåll av cellinjen, vilket säkerställer tillförlitliga experimentella resultat.
Incubation Atmosphere	37°C, 5%$_{CO2}$, befuktad atmosfär.
Flask Coating	Ingen
Freezing Procedure	Kryopreserverade cellinjer skickas på torris i validerade, isolerade förpackningar med tillräckligt med kylmedel för att hålla cirka -78 °C under hela transporten. Vid mottagandet ska behållaren omedelbart inspekteras och flaskorna utan dröjsmål överföras till lämplig förvaring.

HMC3-celler | 300102

Shipping Conditions	Kryopreserverade cellinjer skickas på torris i validerade, isolerade förpackningar med tillräckligt med kylmedel för att hålla cirka -78 °C under hela transporten. Vid mottagandet ska behållaren omedelbart inspekteras och flaskorna utan dröjsmål överföras till lämplig förvaring.
Storage Conditions	För långtidsförvaring, placera flaskorna i flytande kväve i ångfas vid ca -150 till -196 °C. Förvaring vid -80 °C är acceptabelt endast som ett kort mellanliggande steg innan överföring till flytande kväve.

Kvalitetskontroll och molekylär analys

Sterility	Mykoplasmakontaminering utesluts med hjälp av både PCR-baserade analyser och luminiscensbaserade metoder för mykoplasmadiagnostik. För att säkerställa att det inte finns någon kontaminering av bakterier, svamp eller jäst utsätts cellkulturerna för dagliga visuella inspektioner.
STR-profil	**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