Product sheet

Клітини HMC3 | 300102

Загальна інформація

Description	Клітинна лінія Human Microglial Clone 3 (HMC3) була розроблена в 1995 році командою професора Тардьє шляхом SV40-залежної імморталізації мікрогліальних клітин зі спинного мозку та кортикальних тканин людини, отриманих з ембріонів віком від 8 до 12 тижнів. Ці первинні клітини, що характеризуються повільним поділом і складною морфологією, спочатку культивували протягом 10-15 днів перед імморталізацією. Клітини HMC3 зберігали кілька ключових особливостей первинної мікроглії, таких як різноманітна експресія мієлоїдних маркерів, таких як CD68, CD11b і CD14, хоча рівні експресії помітно варіювали залежно від вибору первинного антитіла, особливо для CD68. Після імморталізації клітини HMC3 демонстрували підвищену швидкість проліферації з подвоєнням у період від 24 до 48 годин, зберігаючи при цьому багато фенотипічних і морфологічних характеристик своїх первинних аналогів. Зокрема, спостерігалася вища частка CD68 EBM/11-позитивних клітин і зниження фагоцитарної активності порівняно з первинними клітинами. Стабільність антигенної експресії була підтверджена протягом 35 пасажів, при цьому клітини залишалися позитивними до NSE, CD68 і CD11b, але негативними до CD14, MHCII і CD4 у вихідних умовах. Однак вплив інтерферону-γ (IFNγ) підвищував експресію MHCII, що більш точно відповідало реакції первинної культури на ту ж саму обробку. Функціонально лінія HMC3 вирізнялася тим, що продукувала вищі рівні інтерлейкіну-6 (IL-6) за базальних умов порівняно з іншими клонами. Незважаючи на це, пряме порівняння з продукцією цитокінів первинними мікрогліальними клітинами залишається складним через методологічні відмінності. Відповідь на стимуляцію ліпополісахаридом (ЛПС) у цих іммортализованих лініях виявилася зниженою порівняно з первинними культурами. Відповідно до первинних мікрогліальних характеристик, HMC3 та інші клоновані лінії не продукували фактор некрозу пухлин-альфа (ФНП-α) ні спонтанно, ні після прозапальної стимуляції, що підкреслює специфічну особливість людської ембріональної мікроглії.
Organism	Людина
Tissue	Мозок плоду
Applications	3D-культура клітин, неврологія, нейронаука, нейрозапалення
Synonyms	Клон мікроглії людини 3, CHME-3, CHME3

Характеристики

Age	Плід
Gender	Не визначено
Morphology	Макрофаг
Cell type	Мікрогліальна клітина

Клітини HMC3 | 300102

Growth properties	Адепт

Нормативні дані

Citation	HMC3 (номер за каталогом Cytion 300102)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_II76
GMO Status	ГМО-S1: Ця лінія клітин мікроглії ембріонального мозку людини (HMC3) містить конструкцію Т-антигену SV40, введену шляхом трансфекції, що підтримує імморталізацію. Вставка стабільно присутня в клітинах, отриманих з мікроглії. Ця класифікація застосовується лише в Німеччині і може відрізнятися в інших країнах.

Біомолекулярні дані

Viruses	Генетичний матеріал SV40 стабільно інтегрований в геном клітини. Не відбувається активного виробництва або вивільнення повноцінних вірусних частинок, що зменшує потенційні проблеми біобезпеки.

Обробка

Culture Medium	DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 г/л Глюкоза, w: 2,5 мМ L-глутамін, w: 15 мМ HEPES, w: 0,5 мМ Піруват натрію, w: 1,2 г/л NaHCO3 (цит. номер 820400a)
Supplements	Додайте до середовища 10% FBS
Dissociation Reagent	Аккутаза
Doubling time	24 та 48 годин
Subculturing	Видаліть старе середовище з прилиплих клітин і промийте їх PBS, в якому бракує кальцію і магнію. Для колб T25 використовуйте 3-5 мл PBS, а для колб T75 - 5-10 мл. Потім повністю покрийте клітини аккутазою, використовуючи 1-2 мл для колб T25 і 2,5 мл для колб T75. Залиште клітини інкубуватися при кімнатній температурі протягом 8-10 хвилин, щоб відокремити їх. Після інкубації обережно змішайте клітини з 10 мл середовища, щоб ресуспендувати їх, а потім центрифугуйте при 300xg протягом 3 хвилин. Викиньте надосадову рідину, ресуспендуйте клітини у свіжому середовищі та перенесіть їх у нові колби, які вже містять свіже середовище.

Клітини HMC3 | 300102

Freeze medium	Як середовище кріоконсервування ми використовуємо повне живильне середовище (включаючи FBS) + 10% ДМСО для адекватної життєздатності після відтавання або CM-1 (номер за каталогом Cytion 800100), до складу якого входять оптимізовані осмопротектори та метаболічні стабілізатори для прискорення відновлення та зменшення кріоіндукованого стресу.
Thawing and Culturing Cells	1. Переконайтеся, що віал залишається глибоко замороженим після доставки, оскільки клітини транспортуються на сухому льоду для підтримання оптимальної температури під час транспортування. 2. Після отримання негайно зберігайте кріовіал при температурі нижче -150°C, щоб забезпечити збереження клітинної цілісності, або перейдіть до кроку 3, якщо потрібне негайне культивування. 3. Для негайного культивування швидко розморозьте віал, занурivши його у водяну баню з чистою водою і антимікробним засобом при температурі 37°C, обережно перемішуючи протягом 40-60 секунд, поки не залишиться невелика крижана грудка. 4. Всі наступні кроки виконуйте в стерильних умовах у проточній витяжній шафі, дезінфікуючи кріовіал 70% етанолом перед відкриттям. 5. Обережно відкрийте продезінфікований флакон і перенесіть клітинну суспензію в 15 мл центрифужну пробірку, що містить 8 мл культурального середовища кімнатної температури, обережно перемішуючи. 6. Відцентрифугуйте суміш при 300 x g протягом 3 хвилин, щоб відокремити клітини, і обережно викиньте надосадову рідину, що містить залишки заморожувального середовища. 7. Обережно ресуспендуйте осад клітин у 10 мл свіжого культурального середовища. Для адгезивних клітин розділіть суспензію між двома культуральними колбами T25; для суспензійних культур перенесіть все середовище в одну колбу T25, щоб сприяти ефективній взаємодії та росту клітин. 8. Дотримуйтесь встановлених протоколів субкультивування для продовження росту і підтримання клітинної лінії, забезпечуючи надійні результати експерименту.
Incubation Atmosphere	37°C, 5% $_{CO2}$, волога атмосфера.
Flask Coating	Ні

Клітини HMC3 | 300102

Freezing Procedure	Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевіреній ізольованій упаковці з достатньою кількістю холодоагенту для підтримання температури приблизно -78 °C під час транспортування. При отриманні негайно огляньте контейнер і негайно перемістіть віали у відповідне місце для зберігання.
Shipping Conditions	Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевіреній ізольованій упаковці з достатньою кількістю холодоагенту для підтримання температури приблизно -78 °C під час транспортування. При отриманні негайно огляньте контейнер і без зволікань перемістіть флакони у відповідне місце зберігання.
Storage Conditions	Для тривалого зберігання помістіть флакони в парофазний рідкий азот при температурі від -150 до -196 °C. Зберігання при -80 °C допустиме лише як короткий проміжний етап перед перенесенням у рідкий азот.

Контроль якості та молекулярний аналіз

Sterility	Зараження мікоплазмою виключається за допомогою аналізів на основі ПЛР та люмінесцентних методів виявлення мікоплазми. Щоб переконатися у відсутності бактеріального, грибкового або дріжджового забруднення, клітинні культури піддаються щоденному візуальному контролю.