Product sheet

Cellules HMC3 | 300102

Renseignements généraux

Description	La lignée cellulaire « Human Microglial Clone 3 » (HMC3) a été mise au point en 1995 par l'équipe du professeur Tardieu grâce à l'immortalisation, par le virus SV40, de cellules microgliales issues de tissus de la moelle épinière et du cortex cérébral humains, provenant d'embryons âgés de 8 à 12 semaines. Ces cellules primaires, caractérisées par une division lente et des morphologies complexes, ont d'abord été cultivées pendant 10 à 15 jours avant leur immortalisation. Les cellules HMC3 ont conservé plusieurs caractéristiques clés des microglies primaires, telles qu'une expression variée de marqueurs myéloïdes comme le CD68, le CD11b et le CD14, bien que les niveaux d'expression aient varié de façon notable selon le choix de l'anticorps primaire, en particulier pour le CD68. Après immortalisation, les cellules HMC3 ont présenté des taux de prolifération accrus, avec des temps de doublement compris entre 24 et 48 heures, tout en conservant de nombreuses caractéristiques phénotypiques et morphologiques de leurs homologues primaires. Il convient de noter qu'on observait une proportion plus élevée de cellules positives pour le CD68 EBM/11 et une réduction de l'activité phagocytaire par rapport aux cellules primaires. La stabilité de l'expression antigénique a été confirmée sur 35 passages, les cellules demeurant positives pour NSE, CD68 et CD11b, mais négatives pour CD14, MHCII et CD4 dans des conditions de base. Cependant, l'exposition à l'interféron-γ (IFNγ) a entraîné une augmentation de l'expression du CMHII, ce qui correspond davantage aux réponses observées dans les cultures primaires soumises au même traitement. Sur le plan fonctionnel, la lignée HMC3 s'est distinguée en produisant des niveaux plus élevés d'interleukine-6 (IL-6) dans des conditions de base par rapport aux autres clones. Malgré cela, une comparaison directe avec la production de cytokines des cellules microgliales primaires demeure difficile en raison de différences méthodologiques. La réponse à la stimulation par le lipopolysaccharide (LPS) dans ces lignées immortalisées semblait atténuée par rapport aux cultures primaires. Conformément aux caractéristiques des microglies primaires, la lignée HMC3 et les autres lignées clonées ne produisaient pas de facteur de nécrose tumorale alpha (TNFα), ni spontanément ni à la suite d'une stimulation pro-inflammatoire, ce qui met en évidence un trait spécifique des microglies embryonnaires humaines.
Organism	Humain
Tissue	Cerveau fœtal
Applications	Culture cellulaire en 3D, neurosciences, neuroinflammation
Synonyms	Clone 3 de microglies humaines, CHME-3, CHME3

Caractéristiques

Age	Fœtus
Gender	Non précisé
Morphology	Macrophage

Product sheet

Cellules HMC3 | 300102

Cell type	Cellule microgliale
Growth properties	Adepte

Données réglementaires

Citation	HMC3 (numéro de catalogue Cytion 300102)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_II76
GMO Status	GMO-S1 : Cette lignée cellulaire de microglies issues du cerveau fœtal humain (HMC3) contient un construct de l'antigène T du SV40 introduit par transfection, ce qui favorise l'immortalisation. L'insert est présent de manière stable dans les cellules dérivées des microglies. Cette classification ne s'applique qu'en Allemagne et peut varier ailleurs.

Données biomoléculaires

Viruses	Le matériel génétique du SV40 est intégré de manière stable dans le génome cellulaire. Il n'y a ni production active ni libération de particules virales complètes, ce qui atténue les préoccupations potentielles en matière de biosécurité.

Manipulation

Culture Medium	DMEM : F12 de Ham (1:1), p/v : 3,1 g/L de glucose, p/v : 2,5 mM de L-glutamine, p/v : 15 mM d'HEPES, 0,5 mM de pyruvate de sodium, 1,2 g/L de $NaHCO_3$ (référence Cytion 820400a)
Supplements	Ajouter 10 % de FBS au milieu de culture
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	24 et 48 heures

Cellules HMC3 | 300102

Subculturing

Retirez l'ancien milieu des cellules adhérentes et lavez-les avec du PBS sans calcium ni magnésium. Pour les flacons T25, utilisez 3 à 5 ml de PBS, et pour les flacons T75, utilisez 5 à 10 ml. Ensuite, recouvrez complètement les cellules d'Accutase, en utilisant 1 à 2 ml pour les flacons T25 et 2,5 ml pour les flacons T75. Laissez les cellules incuber à température ambiante pendant 8 à 10 minutes afin de les détacher. Après l'incubation, mélangez délicatement les cellules avec 10 ml de milieu pour les remettre en suspension, puis centrifugez à 300 x g pendant 3 minutes. Éliminez le surnageant, remettez les cellules en suspension dans du milieu frais, puis transférez-les dans de nouveaux flacons contenant déjà du milieu frais.

Freeze medium

Comme milieu de cryoconservation, nous utilisons un milieu de croissance complet (contenant du sérum fœtal bovin) + 10 % de DMSO pour assurer une viabilité adéquate après décongélation, ou du CM-1 (référence Cytion 800100), qui contient des osmoprotecteurs et des stabilisateurs métaboliques optimisés pour améliorer la récupération et réduire le stress induit par la cryoconservation.

Thawing and Culturing Cells

1. Assurez-vous que le flacon reste bien congelé à la livraison, car les cellules sont expédiées sur de la glace sèche afin de maintenir des températures optimales pendant le transport.

2. À la réception, conservez immédiatement le cryofiole à une température inférieure à -150 °C pour garantir la préservation de l'intégrité cellulaire, ou passez à l'étape 3 si une culture immédiate est nécessaire.

3. Pour une culture immédiate, décongelez rapidement le flacon en l'immergeant dans un bain-marie à 37 °C contenant de l'eau propre et un agent antimicrobien, en agitant doucement pendant 40 à 60 secondes jusqu'à ce qu'il ne reste qu'un petit morceau de glace.

4. Effectuez toutes les étapes suivantes dans des conditions stériles sous une hotte à flux laminaire, en désinfectant le cryotube avec de l'éthanol à 70 % avant de l'ouvrir.

5. Ouvrez avec précaution le flacon désinfecté et transférez la suspension cellulaire dans un tube à centrifuger de 15 ml contenant 8 ml de milieu de culture à température ambiante, en mélangeant délicatement.

6. Centrifuger le mélange à 300 x g pendant 3 minutes pour séparer les cellules, puis jeter avec précaution le surnageant contenant le milieu de congélation résiduel.

7. Remettre délicatement le culot cellulaire en suspension dans 10 ml de milieu de culture frais. Pour les cellules adhérentes, répartir la suspension dans deux flacons de culture T25; pour les cultures en suspension, transférer la totalité du milieu dans un seul flacon T25 afin de favoriser une interaction et une croissance cellulaires efficaces.

8. Respectez les protocoles de sous-culture établis pour assurer la croissance continue et le maintien de la lignée cellulaire, garantissant ainsi des résultats expérimentaux fiables.

Cellules HMC3 | 300102

Incubation Atmosphere	37 °C, 5 % de CO_2, atmosphère humidifiée.
Shipping Conditions	Les lignées cellulaires cryoconservées sont expédiées dans de la glace sèche, dans un emballage isotherme validé contenant suffisamment de réfrigérant pour maintenir une température d'environ −78 °C pendant tout le transport. À la réception, inspectez immédiatement le conteneur et transférez sans délai les flacons dans un lieu de stockage approprié.
Storage Conditions	Pour une conservation à long terme, placez les flacons dans de l'azote liquide en phase vapeur à une température comprise entre environ −150 et −196 °C. L'entreposage à −80 °C n'est acceptable qu'à titre d'étape intermédiaire de courte durée avant le transfert dans l'azote liquide.

Contrôle de la qualité et analyse moléculaire

Sterility	La contamination par les mycoplasmes est exclue à l'aide de tests basés sur la PCR et de méthodes de détection des mycoplasmes par luminescence. Afin de s'assurer qu'il n'y a aucune contamination bactérienne, fongique ou par des levures, les cultures cellulaires font l'objet d'inspections visuelles quotidiennes.