**Product sheet**

# Células HMC3 | 300102

## Informações gerais

| | |
|---|---|
| **Description** | A linhagem celular Human Microglial Clone 3 (HMC3) foi desenvolvida em 1995 pela equipe do professor Tardieu por meio da imortalização dependente do SV40 de células microgliais provenientes de tecidos da medula espinhal e do córtex humanos, obtidos de embriões com idade entre 8 e 12 semanas. Essas células primárias, caracterizadas por divisão lenta e morfologias complexas, foram inicialmente cultivadas por 10 a 15 dias antes da imortalização. As células HMC3 mantiveram várias características-chave da microglia primária, como a expressão diversificada de marcadores mieloides, tais como CD68, CD11b e CD14, embora os níveis de expressão variassem notavelmente com a escolha do anticorpo primário, particularmente para o CD68.<br><br>Após a imortalização, as células HMC3 apresentaram taxas de proliferação aumentadas, com tempos de duplicação entre 24 e 48 horas, ao mesmo tempo em que preservaram muitas características fenotípicas e morfológicas de suas contrapartes primárias. Notavelmente, observou-se uma proporção maior de células positivas para CD68 EBM/11 e uma redução na atividade fagocítica em comparação com as células primárias. A estabilidade na expressão antigênica foi confirmada ao longo de 35 passagens, com as células permanecendo positivas para NSE, CD68 e CD11b, mas negativas para CD14, MHCII e CD4 em condições basais. No entanto, a exposição ao interferon-γ (IFNγ) elevou a expressão de MHCII, aproximando-se mais das respostas da cultura primária ao mesmo tratamento.<br><br>Funcionalmente, a linhagem HMC3 se destacou 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 por células microgliais primárias continua sendo um desafio devido a diferenças metodológicas. A resposta à estimulação com lipopolissacarídeo (LPS) nessas linhagens imortalizadas pareceu diminuída em relação às culturas primárias. Consistente com as características da microglia primária, a linha HMC3 e outras linhas clonadas não produziram o fator de necrose tumoral alfa (TNFα), nem espontaneamente nem após estimulação pró-inflamatória, destacando uma característica específica da microglia embrionária humana. |
| **Organism** | Humano |
| **Tissue** | Cérebro fetal |
| **Applications** | Cultura celular 3D, Neurociência, Neuroinflamação |
| **Synonyms** | Clone 3 de microglia humana, CHME-3, CHME3 |

## Características

| | |
|---|---|
| **Age** | Feto |
| **Gender** | Não especificado |
| **Morphology** | Macrófago |

**Product sheet**

## Células HMC3 | 300102

| | |
|---|---|
| **Cell type** | Célula microglial |
| **Growth properties** | Aderente |

## Dados regulatórios

| | |
|---|---|
| **Citation** | HMC3 (número de catálogo da Cytion 300102) |
| **Biosafety level** | 1 |
| **NCBI_TaxID** | 9606 |
| **CellosaurusAccession** | CVCL_II76 |
| **GMO Status** | GMO-S1: Esta linhagem celular de microglia do cérebro fetal humano (HMC3) contém uma construção do antígeno T do SV40 introduzida por transfecção, o que permite a imortalização. A inserção está presente de forma estável nas células derivadas da microglia. Esta classificação se aplica apenas na Alemanha e pode diferir em outros países. |

## Dados biomoleculares

| | |
|---|---|
| **Viruses** | O material genético do SV40 está integrado de forma estável ao genoma celular. Não há produção ativa nem liberação de partículas virais completas, o que atenua possíveis preocupações com a biossegurança. |

## Manuseio

| | |
|---|---|
| **Culture Medium** | DMEM:Ham's F12 (1:1), p/v: 3,1 g/L de glicose, p/v: 2,5 mM de L-glutamina, p/v: 15 mM de HEPES, peso: 0,5 mM de piruvato de sódio, peso: 1,2 g/L de $NaHCO_3$ (número de artigo da Cytion 820400a) |
| **Supplements** | Adicione 10% de FBS ao meio |
| **Dissociation Reagent** | Accutase |
| **Doubling time** | 24 e 48 horas |

# Células HMC3 | 300102

| | |
|---|---|
| **Subculturing** | Remova o meio antigo das células aderentes e lave-as com PBS sem cálcio nem magnésio. Para frascos T25, use 3 a 5 ml de PBS; para frascos T75, use 5 a 10 ml. Em seguida, cubra as células completamente com Accutase, utilizando 1 a 2 ml para frascos T25 e 2,5 ml para frascos T75. Deixe as células incubarem à temperatura ambiente por 8 a 10 minutos para que se desprendam. Após a incubação, misture delicadamente as células com 10 ml de meio para ressuspender, depois centrifugue a 300xg por 3 minutos. Descarte o sobrenadante, ressuspenda as células em meio fresco e transfira-as para novos frascos que já contenham meio fresco. |
| **Freeze medium** | Como meio de criopreservação, utilizamos meio de crescimento completo (incluindo FBS) + 10% de DMSO para garantir viabilidade adequada após o descongelamento, ou CM-1 (número de catálogo da Cytion 800100), que inclui osmoprotetores e estabilizadores metabólicos otimizados para melhorar a recuperação e reduzir o estresse induzido pela criopreservação. |
| **Thawing and Culturing Cells** | 1. Verifique se o frasco permanece profundamente congelado no momento da entrega, pois as células são enviadas em gelo seco para manter as temperaturas ideais durante o transporte.<br>2. Após o recebimento, armazene o criovial imediatamente a temperaturas abaixo de -150 °C para garantir a preservação da integridade celular ou prossiga para a etapa 3, caso seja necessária a cultura imediata.<br>3. Para cultura imediata, descongele rapidamente o frasco imergindo-o em um banho-maria a 37 °C com água limpa e um agente antimicrobiano, agitando suavemente por 40 a 60 segundos até que reste apenas um pequeno pedaço de gelo.<br>4. Realize todas as etapas subsequentes em condições estéreis em uma cabine de fluxo, desinfetando o criovial com etanol a 70% antes de abri-lo.<br>5. Abra cuidadosamente o frasco desinfetado e transfira a suspensão celular para um tubo de centrífuga de 15 ml contendo 8 ml de meio de cultura à temperatura ambiente, misturando delicadamente.<br>6. Centrifugue a mistura a 300 x g por 3 minutos para separar as células e descarte cuidadosamente o sobrenadante contendo o meio de congelamento residual.<br>7. Ressuspender suavemente o sedimento celular em 10 ml de meio de cultura fresco. Para células aderentes, dividir a suspensão entre dois frascos de cultura T25; para culturas em suspensão, transferir todo o meio para um frasco T25 a fim de promover a interação e o crescimento celular eficazes.<br>8. Siga os protocolos de subcultura estabelecidos para o crescimento contínuo e a manutenção da linhagem celular, garantindo resultados experimentais confiáveis. |
| **Incubation Atmosphere** | 37 °C, 5% de $CO_2$, atmosfera umidificada. |

## Células HMC3 | 300102

| | |
|---|---|
| **Shipping Conditions** | As linhagens celulares criopreservadas são enviadas em gelo seco, em embalagens isoladas e validadas, com refrigerante suficiente para manter a temperatura em aproximadamente −78 °C durante todo o transporte. Ao receber a remessa, inspecione o recipiente imediatamente e transfira os frascos sem demora para o local de armazenamento adequado. |
| **Storage Conditions** | Para preservação a longo prazo, coloque os frascos em nitrogênio líquido em fase de vapor a uma temperatura entre aproximadamente −150 e −196 °C. O armazenamento a −80 °C é aceitável apenas como uma etapa intermediária de curta duração antes da transferência para o nitrogênio líquido. |

## Controle de Qualidade e Análise Molecular

| | |
|---|---|
| **Sterility** | A contaminação por micoplasma é descartada por meio de ensaios baseados em PCR e de métodos de detecção de micoplasma baseados em luminescência.<br><br>Para garantir que não haja contaminação por bactérias, fungos ou leveduras, as culturas celulares são submetidas a inspeções visuais diárias. |