HMC3-Zellen

300102

Die Zelllinie Human Microglial Clone 3 (HMC3) wurde 1995 vom Team von Professor Tardieu durch SV40-abhängige Immortalisierung von Mikrogliazellen aus menschlichem Rückenmarks- und Kortikalgewebe entwickelt, die von Embryonen im Alter von 8 bis 12 Wochen stammen. Diese primären Zellen, die sich durch langsame Teilung und komplexe Morphologien auszeichnen, wurden vor der Immortalisierung zunächst 10-15 Tage lang kultiviert. Die HMC3-Zellen behielten mehrere Schlüsselmerkmale primärer Mikroglia bei, wie z. B. eine vielfältige Expression myeloider Marker wie CD68, CD11b und CD14, obwohl die Expressionswerte je nach Wahl des primären Antikörpers, insbesondere für CD68, deutlich variierten.
Nach der Immortalisierung wiesen die HMC3-Zellen erhöhte Proliferationsraten mit Verdopplungszeiten zwischen 24 und 48 Stunden auf, wobei viele phänotypische und morphologische Merkmale ihrer primären Gegenstücke erhalten blieben. Insbesondere war der Anteil der CD68 EBM/11-positiven Zellen höher und die phagozytische Aktivität geringer als bei den primären Zellen. Die Stabilität der Antigenexpression wurde über 35 Passagen hinweg bestätigt, wobei die Zellen unter Ausgangsbedingungen positiv für NSE, CD68 und CD11b, aber negativ für CD14, MHCII und CD4 blieben. Die Exposition gegenüber Interferon-γ (IFNγ) erhöhte jedoch die MHCII-Expression und entsprach damit eher den Reaktionen der Primärkultur auf dieselbe Behandlung.
In funktioneller Hinsicht zeichnete sich die HMC3-Linie dadurch aus, dass sie im Vergleich zu anderen Klonen unter Ausgangsbedingungen höhere Mengen an Interleukin-6 (IL-6) produzierte. Trotzdem bleibt ein direkter Vergleich mit der Zytokinproduktion primärer Mikrogliazellen aufgrund methodischer Unterschiede schwierig. Die Reaktion auf die Stimulierung durch Lipopolysaccharid (LPS) schien bei diesen immortalisierten Linien im Vergleich zu Primärkulturen vermindert zu sein. Im Einklang mit primären Mikrogliaeigenschaften produzierten die HMC3- und andere klonierte Linien weder spontan noch nach einer entzündungsfördernden Stimulation Tumor-Nekrose-Faktor-alpha (TNFα), was ein spezifisches Merkmal der humanen embryonalen Mikroglia hervorhebt.

ALLGEMEINE INFORMATIONEN

Beschreibung

Die Zelllinie Human Microglial Clone 3 (HMC3) wurde 1995 vom Team von Professor Tardieu durch SV40-abhängige Immortalisierung von Mikrogliazellen aus menschlichem Rückenmarks- und Kortikalgewebe entwickelt, die von Embryonen im Alter von 8 bis 12 Wochen stammen. Diese primären Zellen, die sich durch langsame Teilung und komplexe Morphologien auszeichnen, wurden vor der Immortalisierung zunächst 10-15 Tage lang kultiviert. Die HMC3-Zellen behielten mehrere Schlüsselmerkmale primärer Mikroglia bei, wie z. B. eine vielfältige Expression myeloider Marker wie CD68, CD11b und CD14, obwohl die Expressionswerte je nach Wahl des primären Antikörpers, insbesondere für CD68, deutlich variierten.
Nach der Immortalisierung wiesen die HMC3-Zellen erhöhte Proliferationsraten mit Verdopplungszeiten zwischen 24 und 48 Stunden auf, wobei viele phänotypische und morphologische Merkmale ihrer primären Gegenstücke erhalten blieben. Insbesondere war der Anteil der CD68 EBM/11-positiven Zellen höher und die phagozytische Aktivität geringer als bei den primären Zellen. Die Stabilität der Antigenexpression wurde über 35 Passagen hinweg bestätigt, wobei die Zellen unter Ausgangsbedingungen positiv für NSE, CD68 und CD11b, aber negativ für CD14, MHCII und CD4 blieben. Die Exposition gegenüber Interferon-γ (IFNγ) erhöhte jedoch die MHCII-Expression und entsprach damit eher den Reaktionen der Primärkultur auf dieselbe Behandlung.
In funktioneller Hinsicht zeichnete sich die HMC3-Linie dadurch aus, dass sie im Vergleich zu anderen Klonen unter Ausgangsbedingungen höhere Mengen an Interleukin-6 (IL-6) produzierte. Trotzdem bleibt ein direkter Vergleich mit der Zytokinproduktion primärer Mikrogliazellen aufgrund methodischer Unterschiede schwierig. Die Reaktion auf die Stimulierung durch Lipopolysaccharid (LPS) schien bei diesen immortalisierten Linien im Vergleich zu Primärkulturen vermindert zu sein. Im Einklang mit primären Mikrogliaeigenschaften produzierten die HMC3- und andere klonierte Linien weder spontan noch nach einer entzündungsfördernden Stimulation Tumor-Nekrose-Faktor-alpha (TNFα), was ein spezifisches Merkmal der humanen embryonalen Mikroglia hervorhebt.

Gewebe	Fötales Gehirn

Anwendungen

3D-Zellkultur, Neurowissenschaften, Neuroinflammation

Synonyme

- Human Microglia Clone 3
- CHME-3
- CHME3

Cytion GmbH
Nikola-Tesla-Str. 3
69124 Heidelberg
Tel: +49 (0)6221 405780
info@cytion.com
cytion.com

Registered office Heidelberg
VAT ID: DE283292917
Local court Mannheim - HRB 714394
CEO / Geschäftsführer: Jonathan Steubing

Banking information
Sparkasse Heidelberg
IBAN: DE35 6725 0020 0009 2076 86
BIC: SOLADES1HDB

KLASSIFIZIERUNG

Organismus	Mensch
Sex	Nicht näher bezeichnet
Wachstumseigenschaften	Anhänger
GVO-Status	GMO-S1

Angaben zum GVO-Status

GMO-S1: This human fetal brain microglia cell line (HMC3) contains an SV40 T-Antigen construct introduced by transfection, supporting immortalization. The insert is stably present in microglia-derived cells. This classification applies only within Germany and may differ elsewhere.

Biologische Sicherheitsstufe	1

MERKMALE

Morphologie	Makrophagen
Zelltyp	Mikrogliazelle
Verdopplungszeit	24 und 48 Stunden

BEZEICHNER

Quellenangabe

HMC3 (Cytion Katalognummer 300102)

NCBI-Steuer-ID	9606
Cellosaurus	CVCL_II76

EXPRESSION UND ANFÄLLIGKEIT

Viren

Das SV40-Genmaterial wird stabil in das Zellgenom integriert. Es findet keine aktive Produktion oder Freisetzung vollständiger Viruspartikel statt, was mögliche Bedenken hinsichtlich der biologischen Sicherheit ausräumt.

HANDHABUNG UND KULTUR

Nährmedium

DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/L Glucose, w: 2,5 mM L-Glutamin, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM Natriumpyruvat, w: 1,2 g/L NaHCO3 (Cytion-Artikelnummer 820400a)

Inkubationsatmosphäre	37°C, 5%CO2, befeuchtete Atmosphäre.

Nahrungsergänzungsmittel

Ergänzen Sie das Medium mit 10% FBS

Dissoziationsreagenz	Accutase

Subkultivierung

Entfernen Sie das alte Medium von den adhärenten Zellen und waschen Sie sie mit PBS, das kein Kalzium und Magnesium enthält. Für T25-Kolben 3-5 ml PBS und für T75-Kolben 5-10 ml verwenden. Anschließend werden die Zellen vollständig mit Accutase bedeckt, wobei 1-2 ml für T25-Kolben und 2,5 ml für T75-Kolben verwendet werden. Lassen Sie die Zellen 8-10 Minuten bei Raumtemperatur inkubieren, um sie abzulösen. Nach der Inkubation mischen Sie die Zellen vorsichtig mit 10 ml Medium, um sie zu resuspendieren, und zentrifugieren sie dann 3 Minuten lang bei 300xg. Den Überstand verwerfen, die Zellen in frischem Medium resuspendieren und in neue Kolben überführen, die bereits frisches Medium enthalten.

Auftauen und Kultivierung

Confirm that the vial remains deeply frozen upon delivery, as cells are shipped on dry ice to maintain optimal temperatures during transit.
Upon receipt, either store the cryovial immediately at temperatures below -150°C to ensure the preservation of cellular integrity, or proceed to step 3 if immediate culturing is required.
For immediate culturing, swiftly thaw the vial by immersing it in a 37°C water bath with clean water and an antimicrobial agent, agitating gently for 40-60 seconds until a small ice clump remains.
Perform all subsequent steps under sterile conditions in a flow hood, disinfecting the cryovial with 70% ethanol before opening.
Carefully open the disinfected vial and transfer the cell suspension into a 15 ml centrifuge tube containing 8 ml of room-temperature culture medium, mixing gently.
Centrifuge the mixture at 300 x g for 3 minutes to separate the cells and carefully discard the supernatant containing residual freezing medium.
Gently resuspend the cell pellet in 10 ml of fresh culture medium. For adherent cells, divide the suspension between two T25 culture flasks; for suspension cultures, transfer all the medium into one T25 flask to promote effective cell interaction and growth.
Adhere to established subculture protocols for continued growth and maintenance of the cell line, ensuring reliable experimental outcomes.

QUALITÄTSKONTROLLE UND KRYOKONSERVIERUNG

Sterilität

Eine Kontamination mit Mykoplasmen wird sowohl durch PCR-basierte Assays als auch durch lumineszenzbasierte Mykoplasmen-Nachweisverfahren ausgeschlossen.
Um sicherzustellen, dass keine Kontamination mit Bakterien, Pilzen oder Hefen vorliegt, werden die Zellkulturen täglich visuell überprüft.

Gefriermedium	Als Kryokonservierungsmedium verwenden wir komplettes Wachstumsmedium (einschließlich FBS) + 10 % DMSO für eine angemessene Lebensfähigkeit nach dem Auftauen oder CM-1 (Cytion Katalognummer 800100), das optimierte Osmoprotektoren und Stoffwechselstabilisatoren enthält, um die Erholung zu verbessern und kryoinduzierten Stress zu reduzieren.

Lagerbedingungen

Zur Langzeitkonservierung werden die Fläschchen in flüssigem Stickstoff bei etwa -150 bis -196 °C gelagert. Eine Lagerung bei -80 °C ist nur als kurzer Zwischenschritt vor der Überführung in flüssigen Stickstoff akzeptabel.

Versandbedingungen

Kryokonservierte Zelllinien werden auf Trockeneis in einer validierten, isolierten Verpackung mit ausreichend Kühlmittel versandt, um während des gesamten Transports eine Temperatur von etwa -78 °C aufrechtzuerhalten. Prüfen Sie den Behälter bei Erhalt sofort und bringen Sie die Fläschchen unverzüglich in ein geeignetes Lager.

SPENDER

Alter des Spenders	Fötus

RECHTLICHES UND SICHERHEIT

Sicherheitshinweise

Wenn Sie planen, ein Kryovial in flüssigem Stickstoff zu lagern, um es später aufzutauen, müssen Sie strenge Sicherheitsmaßnahmen einhalten. Geeignete Schutzhandschuhe und -kleidung sind unerlässlich, und beim Transfer der gefrorenen Proben in den oder aus dem Flüssigstickstofftank ist das Tragen einer Gesichtsmaske oder einer Schutzbrille erforderlich. Damit soll die Verletzungsgefahr durch mögliche Explosionen der Kryovials bei der Entnahme, die zum Herausschleudern von scharfen Fragmenten führen können, verringert werden.

Garantie

Bei Cytion stehen wir hinter der Qualität und Lebensfähigkeit unserer Produkte.
Wir garantieren, dass unsere Zellen zu Beginn der Kultur für 60 Tage nach dem Versand aus unseren Einrichtungen lebensfähig sind.
Wir versichern, dass alle Materialien mit den im Analysezertifikat und/oder Produktblatt beschriebenen Spezifikationen übereinstimmen
Ausführliche Informationen finden Sie in unserer <a href=""/Who-we-are/Warranty/"" hreflang=""x-default"">Garantieerklärung

Materialübertragungsvereinbarung erforderlich	Yes