Cellules HMC3

300102

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.

GENERAL INFORMATION

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.

Tissue	Cerveau fœtal

Applications

Culture cellulaire en 3D, neurosciences, neuroinflammation

Synonyms

- 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

CLASSIFICATION

Organism	Human
Sex	Unspecified
Growth properties	Adherent
GMO status	GMO-S1

GMO status details

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.

Biosafety level	1

CHARACTERISTICS

Morphology	Macrophage
Cell type	Cellule microgliale
Doubling time	24 et 48 heures

IDENTIFIERS

Citation

HMC3 (numéro de catalogue Cytion 300102)

NCBI TaxID	9606
Cellosaurus	CVCL_II76

EXPRESSION AND SUSCEPTIBILITY

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.

HANDLING AND CULTURE

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)

Incubation atmosphere	37 °C, 5 % de CO_2, atmosphère humidifiée.

Supplements

Ajouter 10 % de FBS au milieu de culture

Dissociation reagent	Accutase

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.

Thawing and culturing

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.

QUALITY CONTROL AND CRYOPRESERVATION

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.

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.

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.

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.

DONOR

Donor age	Fœtus

LEGAL AND SAFETY

Safety precautions

Lorsqu’on prévoit entreposer un cryotube dans de l’azote liquide en vue d’une décongélation ultérieure, il est impératif de respecter des mesures de sécurité rigoureuses. Le port de gants et de vêtements de protection appropriés est essentiel, et l’utilisation d’un masque facial ou de lunettes de protection est obligatoire lors du transfert d’échantillons congelés vers ou depuis le réservoir d’azote liquide. Cette précaution vise à réduire le risque de blessure causé par d’éventuelles explosions de cryotubes lors de leur retrait, pouvant entraîner la projection de fragments coupants.

Warranty

Chez Cytion, nous garantissons la qualité et la viabilité de nos produits.
Nous garantissons que nos cellules seront viables au début de la culture pendant 60 jours à compter de leur expédition depuis nos installations.
Nous assurons que tous les matériaux sont conformes aux spécifications décrites dans le certificat d'analyse et/ou la fiche technique du produit.
Pour plus de détails, veuillez consulter notre déclaration de garantie.

Material Transfer Agreement required	Yes