Cellule HMC3

300102

La linea cellulare Human Microglial Clone 3 (HMC3) è stata sviluppata nel 1995 dall'équipe del professor Tardieu attraverso l'immortalizzazione SV40-dipendente di cellule microgliali provenienti da tessuti spinali e corticali umani, ottenuti da embrioni di età compresa tra 8 e 12 settimane. Queste cellule primarie, caratterizzate da una divisione lenta e da una morfologia complessa, sono state inizialmente coltivate per 10-15 giorni prima dell'immortalizzazione. Le cellule HMC3 hanno mantenuto diverse caratteristiche chiave delle microglia primarie, come la diversa espressione di marcatori mieloidi come CD68, CD11b e CD14, anche se i livelli di espressione variavano notevolmente con la scelta dell'anticorpo primario, in particolare per il CD68.
Dopo l'immortalizzazione, le cellule HMC3 hanno mostrato tassi di proliferazione più elevati, con tempi di raddoppio compresi tra 24 e 48 ore, pur conservando molte caratteristiche fenotipiche e morfologiche delle loro controparti primarie. In particolare, è stata riscontrata una maggiore proporzione di cellule CD68 EBM/11-positive e una riduzione dell'attività fagocitaria rispetto alle cellule primarie. La stabilità dell'espressione antigenica è stata confermata attraverso 35 passaggi: le cellule sono rimaste positive per NSE, CD68 e CD11b, ma negative per CD14, MHCII e CD4 in condizioni di base. Tuttavia, l'esposizione all'interferone-γ (IFNγ) ha aumentato l'espressione di MHCII, allineandosi maggiormente alle risposte delle colture primarie allo stesso trattamento.
Dal punto di vista funzionale, la linea HMC3 si è distinta per la produzione di livelli più elevati di interleuchina-6 (IL-6) in condizioni basali rispetto agli altri cloni. Nonostante ciò, un confronto diretto con la produzione di citochine delle cellule microgliali primarie rimane difficile a causa delle differenze metodologiche. La risposta alla stimolazione con lipopolisaccaridi (LPS) in queste linee immortalizzate è apparsa ridotta rispetto alle colture primarie. Coerentemente con le caratteristiche delle microglia primarie, le linee HMC3 e le altre linee clonate non hanno prodotto il fattore di necrosi tumorale alfa (TNFα), né spontaneamente né in seguito a stimolazione pro-infiammatoria, evidenziando una caratteristica specifica delle microglia embrionali umane.

INFORMAZIONI GENERALI

Descrizione

La linea cellulare Human Microglial Clone 3 (HMC3) è stata sviluppata nel 1995 dall'équipe del professor Tardieu attraverso l'immortalizzazione SV40-dipendente di cellule microgliali provenienti da tessuti spinali e corticali umani, ottenuti da embrioni di età compresa tra 8 e 12 settimane. Queste cellule primarie, caratterizzate da una divisione lenta e da una morfologia complessa, sono state inizialmente coltivate per 10-15 giorni prima dell'immortalizzazione. Le cellule HMC3 hanno mantenuto diverse caratteristiche chiave delle microglia primarie, come la diversa espressione di marcatori mieloidi come CD68, CD11b e CD14, anche se i livelli di espressione variavano notevolmente con la scelta dell'anticorpo primario, in particolare per il CD68.
Dopo l'immortalizzazione, le cellule HMC3 hanno mostrato tassi di proliferazione più elevati, con tempi di raddoppio compresi tra 24 e 48 ore, pur conservando molte caratteristiche fenotipiche e morfologiche delle loro controparti primarie. In particolare, è stata riscontrata una maggiore proporzione di cellule CD68 EBM/11-positive e una riduzione dell'attività fagocitaria rispetto alle cellule primarie. La stabilità dell'espressione antigenica è stata confermata attraverso 35 passaggi: le cellule sono rimaste positive per NSE, CD68 e CD11b, ma negative per CD14, MHCII e CD4 in condizioni di base. Tuttavia, l'esposizione all'interferone-γ (IFNγ) ha aumentato l'espressione di MHCII, allineandosi maggiormente alle risposte delle colture primarie allo stesso trattamento.
Dal punto di vista funzionale, la linea HMC3 si è distinta per la produzione di livelli più elevati di interleuchina-6 (IL-6) in condizioni basali rispetto agli altri cloni. Nonostante ciò, un confronto diretto con la produzione di citochine delle cellule microgliali primarie rimane difficile a causa delle differenze metodologiche. La risposta alla stimolazione con lipopolisaccaridi (LPS) in queste linee immortalizzate è apparsa ridotta rispetto alle colture primarie. Coerentemente con le caratteristiche delle microglia primarie, le linee HMC3 e le altre linee clonate non hanno prodotto il fattore di necrosi tumorale alfa (TNFα), né spontaneamente né in seguito a stimolazione pro-infiammatoria, evidenziando una caratteristica specifica delle microglia embrionali umane.

Tessuto	Cervello fetale

Applicazioni

coltura cellulare 3D, Neuroscienze, Neuroinfiammazione

Sinonimi

- 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

CLASSIFICAZIONE

Organismo	Umano
Sesso	Non specificato
Proprietà di crescita	Aderente
Presenza di OGM	GMO-S1

Dettagli sullo stato degli OGM

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.

Livello di biosicurezza	1

CARATTERISTICHE

Morfologia	Macrofago
Tipo di cellula	Cellula microgliale
Tempo di raddoppio	24 e 48 ore

IDENTIFICATORI

Riferimento bibliografico

HMC3 (numero di catalogo Cytion 300102)

Codice fiscale NCBI	9606
Cellosaurus	CVCL_II76

ESPRESSIONE E SUSCETTIBILITÀ

Virus

Il materiale genetico di SV40 è integrato in modo stabile nel genoma della cellula. Non vi è produzione attiva o rilascio di particelle virali complete, il che attenua i potenziali problemi di biosicurezza.

MANIPOLAZIONE E COLTURA

Terreno di coltura

DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/L di glucosio, w: 2,5 mM di L-Glutammina, w: 15 mM di HEPES, w: 0,5 mM di Sodio piruvato, w: 1,2 g/L di NaHCO3 (articolo Cytion numero 820400a)

Atmosfera di incubazione	37°C, 5%CO2, atmosfera umidificata.

Integratori

Integrare il terreno di coltura con il 10% di FBS

Reagente di dissociazione	Accutase

Subcoltura

Rimuovere il vecchio terreno dalle cellule aderenti e lavarle con PBS privo di calcio e magnesio. Per le fiasche T25, utilizzare 3-5 ml di PBS e per le fiasche T75, 5-10 ml. Quindi, coprire completamente le cellule con Accutase, utilizzando 1-2 ml per le fiasche T25 e 2,5 ml per le fiasche T75. Lasciare incubare le cellule a temperatura ambiente per 8-10 minuti per staccarle. Dopo l'incubazione, mescolare delicatamente le cellule con 10 ml di terreno per risospenderle, quindi centrifugare a 300xg per 3 minuti. Scartare il surnatante, risospendere le cellule in terreno fresco e trasferirle in nuove fiasche contenenti terreno fresco.

Scongelamento e coltura

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.

CONTROLLO DI QUALITÀ E CRIOCONSERVAZIONE

Sterilità

La contaminazione da micoplasma viene esclusa utilizzando sia saggi basati sulla PCR sia metodi di rilevamento del micoplasma basati sulla luminescenza.
Per garantire l'assenza di contaminazione batterica, fungina o da lieviti, le colture cellulari sono sottoposte a ispezioni visive quotidiane.

Terreno di coltura congelato	Come terreno di crioconservazione, utilizziamo un terreno di crescita completo (incluso FBS) + 10% DMSO per un'adeguata vitalità post-scongelamento, o CM-1 (numero di catalogo Cytion 800100), che include osmoprotettori e stabilizzatori metabolici ottimizzati per migliorare il recupero e ridurre lo stress crio-indotto.

Condizioni di conservazione

Per la conservazione a lungo termine, porre le fiale in azoto liquido in fase vapore a una temperatura compresa tra -150 e -196 °C circa. La conservazione a -80 °C è accettabile solo come breve fase intermedia prima del trasferimento in azoto liquido.

Condizioni di spedizione

Le linee cellulari crioconservate vengono spedite su ghiaccio secco in confezioni isolate e convalidate, con una quantità di refrigerante sufficiente a mantenere circa -78 °C durante il trasporto. Al ricevimento, ispezionare immediatamente il contenitore e trasferire immediatamente le fiale in un luogo di conservazione appropriato.

DONATORE

Età dei donatori	Feto

ASPETTI LEGALI E DI SICUREZZA

Misure di sicurezza

Quando si prevede di conservare una crioviale in azoto liquido per un futuro scongelamento, è obbligatorio attenersi a rigorose misure di sicurezza. Guanti e indumenti protettivi appropriati sono essenziali e l'uso di una maschera facciale o di occhiali di sicurezza è richiesto durante il trasferimento dei campioni congelati da o verso il serbatoio di azoto liquido. Questo per ridurre il rischio di lesioni dovute a potenziali esplosioni di crioviali al momento della rimozione, che possono provocare la proiezione di frammenti taglienti.

Garanzia

Noi di Cytion garantiamo la qualità e la vitalità dei nostri prodotti.
Garantiamo che le nostre cellule saranno vitali all'inizio della coltura per 60 giorni dopo la spedizione dai nostri stabilimenti.
Assicuriamo che tutti i materiali sono conformi alle specifiche descritte nel Certificato di Analisi e/o nella Scheda Prodotto
Per tutti i dettagli, consultare la nostra <a href=""/Chi-siamo/Garanzia/"" hreflang=""x-default"">Dichiarazione di Garanzia

È richiesto un accordo di trasferimento di materiale	Yes