HMC3-cellen

300102

De humane microgliale kloon 3 (HMC3) cellijn werd in 1995 ontwikkeld door het team van professor Tardieu door middel van SV40-afhankelijke immortalisatie van microgliale cellen uit menselijk ruggenmerg en corticaal weefsel, verkregen uit embryo's van 8 tot 12 weken oud. Deze primaire cellen, gekenmerkt door een langzame deling en een complexe morfologie, werden eerst 10-15 dagen gekweekt voordat ze geïmmortaliseerd werden. De HMC3 cellen behielden verschillende belangrijke kenmerken van primaire microglia, zoals een diverse expressie van myeloïde markers zoals CD68, CD11b en CD14, hoewel de expressieniveaus sterk varieerden met de keuze van het primaire antilichaam, vooral voor CD68.
Na immortalisatie vertoonden de HMC3 cellen een verhoogde proliferatie, met verdubbeltijden tussen 24 en 48 uur, terwijl ze veel fenotypische en morfologische kenmerken van hun primaire tegenhangers behielden. Er was met name een hoger aandeel CD68 EBM/11-positieve cellen en een vermindering in fagocytische activiteit vergeleken met de primaire cellen. Stabiliteit in antigenexpressie werd bevestigd over 35 passages, waarbij de cellen positief bleven voor NSE, CD68 en CD11b, maar negatief voor CD14, MHCII en CD4 onder basiscondities. Blootstelling aan interferon-γ (IFNγ) verhoogde echter de MHCII-expressie, wat beter overeenkomt met de reacties van primaire culturen op dezelfde behandeling.
Functioneel onderscheidde de HMC3-lijn zich door hogere niveaus van interleukine-6 (IL-6) te produceren onder basale omstandigheden in vergelijking met andere klonen. Desondanks blijft een directe vergelijking met de cytokineproductie van primaire microgliacellen lastig vanwege methodologische verschillen. De respons op lipopolysaccharide (LPS) stimulatie in deze geïmmortaliseerde lijnen bleek verminderd ten opzichte van primaire culturen. In overeenstemming met de kenmerken van primaire microglia produceerden de HMC3- en andere gekloonde lijnen geen tumornecrosefactor-alfa (TNFα), noch spontaan noch na pro-inflammatoire stimulatie, wat een specifieke eigenschap van menselijke embryonale microglia benadrukt.

ALGEMENE INFORMATIE

Beschrijving

De humane microgliale kloon 3 (HMC3) cellijn werd in 1995 ontwikkeld door het team van professor Tardieu door middel van SV40-afhankelijke immortalisatie van microgliale cellen uit menselijk ruggenmerg en corticaal weefsel, verkregen uit embryo's van 8 tot 12 weken oud. Deze primaire cellen, gekenmerkt door een langzame deling en een complexe morfologie, werden eerst 10-15 dagen gekweekt voordat ze geïmmortaliseerd werden. De HMC3 cellen behielden verschillende belangrijke kenmerken van primaire microglia, zoals een diverse expressie van myeloïde markers zoals CD68, CD11b en CD14, hoewel de expressieniveaus sterk varieerden met de keuze van het primaire antilichaam, vooral voor CD68.
Na immortalisatie vertoonden de HMC3 cellen een verhoogde proliferatie, met verdubbeltijden tussen 24 en 48 uur, terwijl ze veel fenotypische en morfologische kenmerken van hun primaire tegenhangers behielden. Er was met name een hoger aandeel CD68 EBM/11-positieve cellen en een vermindering in fagocytische activiteit vergeleken met de primaire cellen. Stabiliteit in antigenexpressie werd bevestigd over 35 passages, waarbij de cellen positief bleven voor NSE, CD68 en CD11b, maar negatief voor CD14, MHCII en CD4 onder basiscondities. Blootstelling aan interferon-γ (IFNγ) verhoogde echter de MHCII-expressie, wat beter overeenkomt met de reacties van primaire culturen op dezelfde behandeling.
Functioneel onderscheidde de HMC3-lijn zich door hogere niveaus van interleukine-6 (IL-6) te produceren onder basale omstandigheden in vergelijking met andere klonen. Desondanks blijft een directe vergelijking met de cytokineproductie van primaire microgliacellen lastig vanwege methodologische verschillen. De respons op lipopolysaccharide (LPS) stimulatie in deze geïmmortaliseerde lijnen bleek verminderd ten opzichte van primaire culturen. In overeenstemming met de kenmerken van primaire microglia produceerden de HMC3- en andere gekloonde lijnen geen tumornecrosefactor-alfa (TNFα), noch spontaan noch na pro-inflammatoire stimulatie, wat een specifieke eigenschap van menselijke embryonale microglia benadrukt.

Weefsel	Foetale hersenen

Toepassingen

3D celkweek, Neurowetenschappen, Neuroinflamatie

Synoniemen

- 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

CLASSIFICATIE

Organisme	Mens
Seks	Niet gespecificeerd
Groei-eigenschappen	Aanhanger
GGO-status	GMO-S1

Details over de GGO-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.

Bioveiligheidsniveau	1

KENMERKEN

Morfologie	Macrofaag
Celtype	Microgliale cel
Verdubbelingstijd	24 en 48 uur

IDENTIFICATIEGEGEVENS

Bronvermelding

HMC3 (Cytion catalogusnummer 300102)

NCBI-belastingnummer	9606
Cellosaurus	CVCL_II76

EXPRESSIE EN VATBAARHEID

Virussen

Het genetisch materiaal van SV40 is stabiel geïntegreerd in het celgenoom. Er vindt geen actieve productie of afgifte van complete virusdeeltjes plaats, wat mogelijke zorgen over bioveiligheid vermindert.

BEHANDELING EN KWEEK

Kweekmedium

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

Incubatieomgeving	37°C, 5%CO2, bevochtigde atmosfeer.

Supplementen

Vul het medium aan met 10% FBS

Dissociatiereagens	Accutase

Heruitplanten

Verwijder het oude medium van de adherente cellen en was ze met PBS zonder calcium en magnesium. Gebruik voor T25-flesjes 3-5 ml PBS en voor T75-flesjes 5-10 ml. Bedek de cellen vervolgens volledig met Accutase, met 1-2 ml voor T25-flesjes en 2,5 ml voor T75-flesjes. Laat de cellen gedurende 8-10 minuten bij kamertemperatuur incuberen om ze los te maken. Na incubatie de cellen voorzichtig mengen met 10 ml medium om ze te resuspenderen en vervolgens centrifugeren bij 300xg gedurende 3 minuten. Gooi het supernatant weg, resuspendeer de cellen in vers medium en breng ze over in nieuwe kolven die al vers medium bevatten.

Ontdooien en kweken

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.

KWALITEITSCONTROLE EN CRYOPRESERVATIE

Onvruchtbaarheid

Mycoplasmaverontreiniging wordt uitgesloten met zowel PCR-gebaseerde testen als op luminescentie gebaseerde mycoplasmadetectiemethoden.
Om er zeker van te zijn dat er geen besmetting is met bacteriën, schimmels of gisten, worden de celculturen dagelijks onderworpen aan visuele inspecties.

Kweekmedium invriezen	Als cryoconserveringsmedium gebruiken we volledig groeimedium (inclusief FBS) + 10% DMSO voor voldoende levensvatbaarheid na het ontdooien, of CM-1 (Cytion catalogusnummer 800100), dat geoptimaliseerde osmoprotectanten en metabolische stabilisatoren bevat om het herstel te verbeteren en door cryo geïnduceerde stress te verminderen.

Opslagvoorwaarden

Voor langdurige bewaring plaatst u flesjes in vloeibare stikstof in dampfase bij ongeveer -150 tot -196 °C. Opslag bij -80 °C is alleen aanvaardbaar als korte tussenstap vóór overbrenging naar vloeibare stikstof.

Verzendvoorwaarden

Gecryopreserveerde cellijnen worden verzonden op droog ijs in gevalideerde, geïsoleerde verpakkingen met voldoende koelmiddel om gedurende het transport ongeveer -78 °C te handhaven. Inspecteer de verpakking onmiddellijk na ontvangst en breng de flacons onverwijld over naar de juiste opslagplaats.

DONATEUR

Leeftijd van de donor	Foetus

JURIDISCHE EN VEILIGHEIDSASPECTEN

Veiligheidsmaatregelen

Wanneer men van plan is om een cryovial in vloeibare stikstof op te slaan om later te ontdooien, is het verplicht om strenge veiligheidsmaatregelen in acht te nemen. Passende beschermende handschoenen en kleding zijn essentieel en het gebruik van een gezichtsmasker of veiligheidsbril is vereist tijdens het overbrengen van bevroren monsters naar of uit de tank met vloeibare stikstof. Dit is om het risico op letsel door mogelijke cryoviale explosies bij het verwijderen te beperken, wat kan resulteren in de projectie van scherpe fragmenten.

Garantie

Bij Cytion staan we achter de kwaliteit en levensvatbaarheid van onze producten.
We garanderen dat onze cellen levensvatbaar zijn bij het begin van de kweek gedurende 60 dagen na verzending vanuit onze faciliteiten.
We verzekeren dat alle materialen voldoen aan de specificaties beschreven in het analysecertificaat en/of productblad
Raadpleeg voor volledige informatie onze <a href=""/Wie-zijn-wij/Garantie/"" hreflang=""x-default"">Garantieverklaring

Er is een overeenkomst inzake materiaaloverdracht vereist	Yes