Células HMC3

300102

A linha celular Human Microglial Clone 3 (HMC3) foi desenvolvida em 1995 pela equipa do Professor Tardieu através da imortalização dependente de SV40 de células microgliais de tecidos da medula espinal e corticais humanos, obtidos de embriões com idades compreendidas entre as 8 e as 12 semanas. Estas células primárias, caracterizadas por uma divisão lenta e morfologias complexas, foram inicialmente cultivadas durante 10-15 dias antes da imortalização. As células HMC3 mantiveram várias caraterísticas-chave da microglia primária, tais como uma expressão diversificada de marcadores mielóides como CD68, CD11b e CD14, embora os níveis de expressão variassem notavelmente com a escolha do anticorpo primário, particularmente para CD68.
Após a imortalização, as células HMC3 exibiram taxas de proliferação melhoradas, com tempos de duplicação entre 24 e 48 horas, preservando ao mesmo tempo muitas caraterísticas fenotípicas e morfológicas das suas contrapartes primárias. Em particular, verificou-se uma maior proporção de células positivas para CD68 EBM/11 e uma redução da atividade fagocítica em comparação com as células primárias. A estabilidade na expressão antigénica foi confirmada ao longo de 35 passagens, com as células a permanecerem positivas para NSE, CD68 e CD11b, mas negativas para CD14, MHCII e CD4 em condições de base. No entanto, a exposição ao interferão-γ (IFNγ) elevou a expressão de MHCII, alinhando-se mais estreitamente com as respostas da cultura primária ao mesmo tratamento.
Funcionalmente, a linha HMC3 distinguiu-se 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 das células microgliais primárias continua a ser um desafio devido a diferenças metodológicas. A resposta à estimulação com lipopolissacárido (LPS) nestas linhas imortalizadas pareceu diminuída em relação às culturas primárias. Em consonância com as caraterísticas microgliais primárias, a HMC3 e outras linhas clonadas não produziram fator de necrose tumoral alfa (TNFα), quer espontaneamente quer após estimulação pró-inflamatória, salientando uma caraterística específica da microglia embrionária humana.

INFORMAÇÕES GERAIS

Descrição

A linha celular Human Microglial Clone 3 (HMC3) foi desenvolvida em 1995 pela equipa do Professor Tardieu através da imortalização dependente de SV40 de células microgliais de tecidos da medula espinal e corticais humanos, obtidos de embriões com idades compreendidas entre as 8 e as 12 semanas. Estas células primárias, caracterizadas por uma divisão lenta e morfologias complexas, foram inicialmente cultivadas durante 10-15 dias antes da imortalização. As células HMC3 mantiveram várias caraterísticas-chave da microglia primária, tais como uma expressão diversificada de marcadores mielóides como CD68, CD11b e CD14, embora os níveis de expressão variassem notavelmente com a escolha do anticorpo primário, particularmente para CD68.
Após a imortalização, as células HMC3 exibiram taxas de proliferação melhoradas, com tempos de duplicação entre 24 e 48 horas, preservando ao mesmo tempo muitas caraterísticas fenotípicas e morfológicas das suas contrapartes primárias. Em particular, verificou-se uma maior proporção de células positivas para CD68 EBM/11 e uma redução da atividade fagocítica em comparação com as células primárias. A estabilidade na expressão antigénica foi confirmada ao longo de 35 passagens, com as células a permanecerem positivas para NSE, CD68 e CD11b, mas negativas para CD14, MHCII e CD4 em condições de base. No entanto, a exposição ao interferão-γ (IFNγ) elevou a expressão de MHCII, alinhando-se mais estreitamente com as respostas da cultura primária ao mesmo tratamento.
Funcionalmente, a linha HMC3 distinguiu-se 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 das células microgliais primárias continua a ser um desafio devido a diferenças metodológicas. A resposta à estimulação com lipopolissacárido (LPS) nestas linhas imortalizadas pareceu diminuída em relação às culturas primárias. Em consonância com as caraterísticas microgliais primárias, a HMC3 e outras linhas clonadas não produziram fator de necrose tumoral alfa (TNFα), quer espontaneamente quer após estimulação pró-inflamatória, salientando uma caraterística específica da microglia embrionária humana.

Tecido	Cérebro fetal

Aplicações

cultura de células 3D, Neurociência, Neuroinflamação

Sinónimos

- 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

CLASSIFICAÇÃO

Organismo	Humano
Sexo	Não especificado
Propriedades de crescimento	Aderente
Estatuto em matéria de OGM	GMO-S1

Detalhes sobre o estatuto dos 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.

Nível de biossegurança	1

CARACTERÍSTICAS

Morfologia	Macrófago
Tipo de célula	Célula microglial
Tempo de duplicação	24 e 48 horas

IDENTIFICADORES

Referência

HMC3 (número de catálogo Cytion 300102)

Número de identificação fiscal do NCBI	9606
Cellosaurus	CVCL_II76

EXPRESSÃO E SUSCETIBILIDADE

Vírus

O material genético do SV40 é integrado de forma estável no genoma da célula. Não há produção ativa ou libertação de partículas virais completas, o que atenua potenciais preocupações de biossegurança.

MANUSEAMENTO E CULTURA

Meio de cultura

DMEM:Ham's F12 (1:1), com: 3,1 g/L de glucose, com: 2,5 mM de L-Glutamina, com: 15 mM de HEPES, com: 0,5 mM de piruvato de sódio, com: 1,2 g/L de NaHCO3 (número de artigo Cytion 820400a)

Atmosfera de incubação	37°C, 5%CO2, atmosfera humidificada.

Suplementos

Completar o meio com 10% de FBS

Reagente de dissociação	Accutase

Subcultura

Retirar o meio antigo das células aderentes e lavá-las com PBS sem cálcio e magnésio. Nos frascos T25, utilizar 3-5 ml de PBS e nos frascos T75, 5-10 ml. Em seguida, cobrir completamente as células com Accutase, utilizando 1-2 ml para os frascos T25 e 2,5 ml para os frascos T75. Deixar as células incubar à temperatura ambiente durante 8-10 minutos para as destacar. Após a incubação, misturar suavemente as células com 10 ml de meio para as ressuspender e, em seguida, centrifugar a 300xg durante 3 minutos. Deitar fora o sobrenadante, ressuspender as células em meio fresco e transferi-las para novos frascos que já contenham meio fresco.

Descongelamento e cultura

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.

CONTROLO DE QUALIDADE E CRIOPRESERVAÇÃO

Esterilidade

A contaminação por micoplasma é excluída utilizando ensaios baseados em PCR e métodos de deteção de micoplasma baseados em luminescência.
Para garantir que não há contaminação bacteriana, fúngica ou de leveduras, as culturas de células são sujeitas a inspecções visuais diárias.

Meio de congelação	Como meio de criopreservação, utilizamos um meio de crescimento completo (incluindo FBS) + 10% DMSO para uma viabilidade pós-descongelamento adequada, ou CM-1 (número de catálogo Cytion 800100), que inclui osmoprotectores optimizados e estabilizadores metabólicos para melhorar a recuperação e reduzir o stress induzido pela crio.

Condições de armazenamento

Para conservação a longo prazo, colocar os frascos em azoto líquido em fase de vapor a uma temperatura entre -150 e -196 °C. O armazenamento a -80 °C é aceitável apenas como um curto passo intermédio antes da transferência para azoto líquido.

Condições de envio

As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente -78 °C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

DOADOR

Idade do dador	Feto

ASPECTOS LEGAIS E DE SEGURANÇA

Precauções de segurança

Quando se planeia armazenar um criovial em nitrogénio líquido para descongelação futura, é obrigatório aderir a medidas de segurança rigorosas. Luvas e vestuário de proteção adequados são essenciais, e a utilização de uma máscara facial ou óculos de segurança é necessária durante a transferência de amostras congeladas para ou do tanque de nitrogénio líquido. Isto destina-se a mitigar o risco de ferimentos provocados por potenciais explosões de crioviais após a remoção, que podem resultar na projeção de fragmentos afiados.

Garantia

Na Cytion, nós garantimos a qualidade e a viabilidade de nossos produtos.
Garantimos que nossas células serão viáveis no início da cultura por 60 dias após o envio de nossas instalações.
Asseguramos que todos os materiais estão em conformidade com as especificações descritas no Certificado de Análise e/ou Folha de Produto
Para mais informações, consulte a nossa <a href=""/Who-we-are/Warranty/"" hreflang=""x-default"">Declaração de Garantia

É necessário um Acordo de Transferência de Material	Yes