Células HMC3

300102

A linhagem celular Human Microglial Clone 3 (HMC3) foi desenvolvida em 1995 pela equipe do professor Tardieu por meio da imortalização dependente do SV40 de células microgliais provenientes de tecidos da medula espinhal e do córtex humanos, obtidos de embriões com idade entre 8 e 12 semanas. Essas células primárias, caracterizadas por divisão lenta e morfologias complexas, foram inicialmente cultivadas por 10 a 15 dias antes da imortalização. As células HMC3 mantiveram várias características-chave da microglia primária, como a expressão diversificada de marcadores mieloides, tais como CD68, CD11b e CD14, embora os níveis de expressão variassem notavelmente com a escolha do anticorpo primário, particularmente para o CD68.
Após a imortalização, as células HMC3 apresentaram taxas de proliferação aumentadas, com tempos de duplicação entre 24 e 48 horas, ao mesmo tempo em que preservaram muitas características fenotípicas e morfológicas de suas contrapartes primárias. Notavelmente, observou-se uma proporção maior de células positivas para CD68 EBM/11 e uma redução na atividade fagocítica em comparação com as células primárias. A estabilidade na expressão antigênica foi confirmada ao longo de 35 passagens, com as células permanecendo positivas para NSE, CD68 e CD11b, mas negativas para CD14, MHCII e CD4 em condições basais. No entanto, a exposição ao interferon-γ (IFNγ) elevou a expressão de MHCII, aproximando-se mais das respostas da cultura primária ao mesmo tratamento.
Funcionalmente, a linhagem HMC3 se destacou 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 por células microgliais primárias continua sendo um desafio devido a diferenças metodológicas. A resposta à estimulação com lipopolissacarídeo (LPS) nessas linhagens imortalizadas pareceu diminuída em relação às culturas primárias. Consistente com as características da microglia primária, a linha HMC3 e outras linhas clonadas não produziram o fator de necrose tumoral alfa (TNFα), nem espontaneamente nem após estimulação pró-inflamatória, destacando uma característica específica da microglia embrionária humana.

GENERAL INFORMATION

Description

A linhagem celular Human Microglial Clone 3 (HMC3) foi desenvolvida em 1995 pela equipe do professor Tardieu por meio da imortalização dependente do SV40 de células microgliais provenientes de tecidos da medula espinhal e do córtex humanos, obtidos de embriões com idade entre 8 e 12 semanas. Essas células primárias, caracterizadas por divisão lenta e morfologias complexas, foram inicialmente cultivadas por 10 a 15 dias antes da imortalização. As células HMC3 mantiveram várias características-chave da microglia primária, como a expressão diversificada de marcadores mieloides, tais como CD68, CD11b e CD14, embora os níveis de expressão variassem notavelmente com a escolha do anticorpo primário, particularmente para o CD68.
Após a imortalização, as células HMC3 apresentaram taxas de proliferação aumentadas, com tempos de duplicação entre 24 e 48 horas, ao mesmo tempo em que preservaram muitas características fenotípicas e morfológicas de suas contrapartes primárias. Notavelmente, observou-se uma proporção maior de células positivas para CD68 EBM/11 e uma redução na atividade fagocítica em comparação com as células primárias. A estabilidade na expressão antigênica foi confirmada ao longo de 35 passagens, com as células permanecendo positivas para NSE, CD68 e CD11b, mas negativas para CD14, MHCII e CD4 em condições basais. No entanto, a exposição ao interferon-γ (IFNγ) elevou a expressão de MHCII, aproximando-se mais das respostas da cultura primária ao mesmo tratamento.
Funcionalmente, a linhagem HMC3 se destacou 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 por células microgliais primárias continua sendo um desafio devido a diferenças metodológicas. A resposta à estimulação com lipopolissacarídeo (LPS) nessas linhagens imortalizadas pareceu diminuída em relação às culturas primárias. Consistente com as características da microglia primária, a linha HMC3 e outras linhas clonadas não produziram o fator de necrose tumoral alfa (TNFα), nem espontaneamente nem após estimulação pró-inflamatória, destacando uma característica específica da microglia embrionária humana.

Tissue	Cérebro fetal

Applications

Cultura celular 3D, Neurociência, Neuroinflamação

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	Macrófago
Cell type	Célula microglial
Doubling time	24 e 48 horas

IDENTIFIERS

Citation

HMC3 (número de catálogo da Cytion 300102)

NCBI TaxID	9606
Cellosaurus	CVCL_II76

EXPRESSION AND SUSCEPTIBILITY

Viruses

O material genético do SV40 está integrado de forma estável ao genoma celular. Não há produção ativa nem liberação de partículas virais completas, o que atenua possíveis preocupações com a biossegurança.

HANDLING AND CULTURE

Culture medium

DMEM:Ham's F12 (1:1), p/v: 3,1 g/L de glicose, p/v: 2,5 mM de L-glutamina, p/v: 15 mM de HEPES, peso: 0,5 mM de piruvato de sódio, peso: 1,2 g/L de $NaHCO_3$ (número de artigo da Cytion 820400a)

Incubation atmosphere	37 °C, 5% de CO_2, atmosfera umidificada.

Supplements

Adicione 10% de FBS ao meio

Dissociation reagent	Accutase

Subculturing

Remova o meio antigo das células aderentes e lave-as com PBS sem cálcio nem magnésio. Para frascos T25, use 3 a 5 ml de PBS; para frascos T75, use 5 a 10 ml. Em seguida, cubra as células completamente com Accutase, utilizando 1 a 2 ml para frascos T25 e 2,5 ml para frascos T75. Deixe as células incubarem à temperatura ambiente por 8 a 10 minutos para que se desprendam. Após a incubação, misture delicadamente as células com 10 ml de meio para ressuspender, depois centrifugue a 300xg por 3 minutos. Descarte o sobrenadante, ressuspenda as células em meio fresco e transfira-as para novos frascos que já contenham meio fresco.

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

A contaminação por micoplasma é descartada por meio de ensaios baseados em PCR e de métodos de detecção de micoplasma baseados em luminescência.
Para garantir que não haja contaminação por bactérias, fungos ou leveduras, as culturas celulares são submetidas a inspeções visuais diárias.

Freeze medium	Como meio de criopreservação, utilizamos meio de crescimento completo (incluindo FBS) + 10% de DMSO para garantir viabilidade adequada após o descongelamento, ou CM-1 (número de catálogo da Cytion 800100), que inclui osmoprotetores e estabilizadores metabólicos otimizados para melhorar a recuperação e reduzir o estresse induzido pela criopreservação.

Storage conditions

Para preservação a longo prazo, coloque os frascos em nitrogênio líquido em fase de vapor a uma temperatura entre aproximadamente −150 e −196 °C. O armazenamento a −80 °C é aceitável apenas como uma etapa intermediária de curta duração antes da transferência para o nitrogênio líquido.

Shipping conditions

As linhagens celulares criopreservadas são enviadas em gelo seco, em embalagens isoladas e validadas, com refrigerante suficiente para manter a temperatura em aproximadamente −78 °C durante todo o transporte. Ao receber a remessa, inspecione o recipiente imediatamente e transfira os frascos sem demora para o local de armazenamento adequado.

DONOR

Donor age	Feto

LEGAL AND SAFETY

Safety precautions

Ao planejar o armazenamento de um criotubo em nitrogênio líquido para descongelamento futuro, é obrigatório seguir medidas de segurança rigorosas. É essencial o uso de luvas e roupas de proteção adequadas, além do uso obrigatório de máscara facial ou óculos de proteção durante a transferência de amostras congeladas para dentro ou para fora do tanque de nitrogênio líquido. Isso visa mitigar o risco de ferimentos decorrentes de possíveis explosões dos criotubos durante a remoção, o que pode resultar na projeção de fragmentos pontiagudos.

Warranty

Na Cytion, garantimos a qualidade e a viabilidade de nossos produtos.
Garantimos que nossas células permanecerão 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 na Ficha Técnica do Produto.
Para obter todos os detalhes, consulte nossa
Declaração de Garantia.

Material Transfer Agreement required	Yes