

клетки hCMEC/D3 | 305024

Обща информация

Description

Клетъчната линия hCMEC/D3 представлява имортизирана човешка церебрална микроваскуларна ендотелна клетъчна линия, широко използвана за изследване на кръвно-мозъчната бариера (КМБ). Тази клетъчна линия е създадена чрез трансдукция на първични човешки мозъчни микроваскуларни ендотелни клетки с лентивирусен вектор, експресиращ човешка теломеразна обратна транскриптаза (hTERT), ключов ензим за поддържане на дължината на теломерите и по този начин за насърчаване на клетъчното дълголетие, без да се трансформира клетъчният фенотип. Въвеждането на hTERT помага на тези клетки да заобиколят репликативното стареене, което ограничава продължителността на живота на първичните клетки, позволявайки устойчиво размножаване в култура.

Клетките hCMEC/D3 запазват основните физиологични и морфологични характеристики на първичните мозъчни ендотелни клетки, което ги прави ценен модел за in vitro изследвания на BBB. Те включват експресия на белтъци на плътното съединение, като claudin-5, occludin и zonula occludens-1, които са от решаващо значение за поддържане на целостта на бариерата. Клетките също така експресират различни транспортери и рецептори, типични за мозъчния ендотел, което подкрепя използването им в проучвания, свързани с доставката на лекарства и невросъдовите нарушения. Способността на hCMEC/D3 да образуват стегнат монослой с високо електрическо съпротивление подчертава пригодността им за изследвания на пропускливостта на BBB.

Изследванията, в които се използват hCMEC/D3 клетки, обхващат широк спектър от приложения, включително изследване на мозъчни патологии като инсулт, множествена склероза и метастази на рак в мозъка. Тяхната съвместимост с различни техники на молекулярната биология ги прави отличен инструмент за изследване на отговорите на ендотелните клетки към възпалителни стимули, стрес от срязване и невротоксични вещества. Тази клетъчна линия осигурява стабилна, възпроизводима платформа за изследване на молекулярните събития на ниво мозъчен ендотел, допринасяйки за ценни прозрения за сложността на невросъдовото здраве и болести.

Organism

Човек

Tissue

Мозък, темпорален лоб, кръвоносен микросъд

Synonyms

hCMEC/D3, CMEC/D3, човешки кортикални микросъдове ендотелни клетки/D3

Характеристики

Age

Възрастни

Gender

Жена

Morphology

Ендотелиум

Cell type

Ендотелна клетка

клетки hCMEC/D3 | 305024

Growth properties Придържачи се

Регулаторни данни

Citation hCMEC/D3 (каталожен номер 305024 на Cytion)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_U985

GMO Status GMO-S1: Тази човешка микроваскуларна ендотелна клетъчна линия (hCMEC/D3) съдържа летивирусни конструкции, кодиращи SV40 Т-антиген или hTERT, които подпомагат стабилното имортализиране. Вложката се интегрира в първични ендотелни клетки. Тази класификация се прилага само в Германия и може да се различава в други страни.

Биомолекуларни данни

Viruses Трансформатор: Simian virus 40 (SV40)

Работа с

Culture Medium EGM -2 MV Microvascular Endothelial Cell Growth Medium-2 BulletKit (от Lonza, каталожен номер CC-3202 на Lonza)

Supplements Допълнете предоставената базова среда EBM-2, както е препоръчано от производителя

Freeze medium Като среда за криоконсервация използваме 50% базова среда + 40% FBS + 10% DMSO или CM-1 (каталожен номер 800100 на Cytion), която включва оптимизирани осмопротектори и метаболитни стабилизатори за подобряване на възстановяването и намаляване на криоиндуцирания стрес.

клетки hCMEC/D3 | 305024

Thawing and Culturing Cells

1. Уверете се, че флаконът остава дълбоко замразен при доставката, тъй като клетките се транспортират със сух лед, за да се поддържат оптимални температури по време на транспортирането.
2. При получаване или съхранявайте незабавно криовиолата при температури под $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, за да осигурите запазване на клетъчната цялост, или преминете към стъпка 3, ако е необходимо незабавно култивиране.
3. За незабавно култивиране бързо размразете флакона, като го потопите във водна баня с чиста вода и антиминобен агент с температура $37\text{ }^{\circ}\text{C}$, като разбърквате внимателно в продължение на 40-60 секунди, докато остане малка ледена бучка.
4. Извършвайте всички следващи стъпки при стерилни условия в аспиратор, като преди отваряне дезинфекцирате криовиолата със 70% етанол.
5. Внимателно отворете дезинфекцирания флакон и прехвърлете клетъчната суспензия в 15 ml центрофужна епруветка, съдържаща 8 ml хранителна среда със стайна температура, като разбърквате внимателно.
6. Центрофугирайте сместа при 300 x g в продължение на 3 минути, за да отделите клетките, и внимателно изхвърлете супернатантата, съдържаща остатъчна замразяваща среда.
7. Внимателно ресуспендирайте клетъчната пелета в 10 ml прясна хранителна среда. За адхезивни клетки разделете суспензията между две колби T25; за суспензионни култури прехвърлете цялата среда в една колба T25, за да стимулирате ефективното взаимодействие и растеж на клетките.
8. Придържайте се към установените протоколи за субкултивиране за непрекъснат растеж и поддържане на клетъчната линия, като гарантирате надеждни експериментални резултати.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , овлажнена атмосфера.

Flask Coating

Няма

Freezing Procedure

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

клетки hCMC/D3 | 305024

Shipping Conditions

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително -78°C по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

Storage Conditions

За дълготрайно съхранение поставете флаконите в течен азот в парна фаза при температура около -150 до -196°C . Съхранението при -80°C е приемливо само като кратък междинен етап преди прехвърлянето в течен азот.

Контрол на качеството / Генетичен профил / HLA

Sterility

Замърсяването с микоплазма се изключва както чрез PCR-базирани анализи, така и чрез луминесцентни методи за откриване на микоплазма.

За да се гарантира, че няма бактериално, гъбично или дрождево замърсяване, клетъчните култури се подлагат на ежедневни визуални проверки.