

## buňky hCMEC/D3 | 305024

## Obecné informace

## Description

Buněčná linie HCMEC/D3 představuje imortalizovanou linii lidských cerebrálních mikrovaskulárních endoteliálních buněk, která se hojně využívá při studiu hematoencefalické bariéry (BBB). Tato buněčná linie byla vytvořena transdukcí primárních lidských cerebrálních mikrovaskulárních endoteliálních buněk lentivirovým vektorem exprimujícím lidskou telomerázovou reverzní transkriptázu (hTERT), což je klíčový enzym pro udržení délky telomer, a tím podporuje buněčnou dlouhověkost bez transformace buněčného fenotypu. Zavedení hTERT pomáhá těmto buňkám obejít replikační senescenci, která omezuje životnost primárních buněk, a umožňuje jejich trvalé množení v kultuře.

Buňky HCMEC/D3 si zachovávají klíčové fyziologické a morfologické vlastnosti primárních mozkových endoteliálních buněk, což z nich činí cenný model pro in vitro studie BBB. Patří mezi ně exprese proteinů těsného spojení, jako jsou claudin-5, occludin a zonula occludens-1, které jsou rozhodující pro udržení integrity bariéry. Buňky také exprimují různé přenašeče a receptory typické pro mozkový endotel, což podporuje jejich využití ve studiích týkajících se podávání léčiv a neurovaskulárních poruch. Schopnost HCMEC/D3 vytvářet těsnou monovrstvu s vysokým elektrickým odporem podtrhuje jejich vhodnost pro testy propustnosti BBB.

Výzkum využívající buňky HCMEC/D3 zahrnuje širokou škálu aplikací, včetně výzkumu mozkových patologií, jako je mrtvice, roztroušená skleróza a metastázy rakoviny do mozku. Jejich kompatibilita s různými technikami molekulární biologie z nich rovněž činí vynikající nástroj pro studium reakcí endoteliálních buněk na zánětlivé podněty, smykový stres a neurotoxické látky. Tato buněčná linie poskytuje robustní, reprodukovatelnou platformu pro pitvání molekulárních dějů na úrovni mozkového endotelu, což přispívá k cenným poznatkům o složitosti neurovaskulárního zdraví a onemocnění.

## Organism

Člověk

## Tissue

Mozek, spánkový lalok, krevní mikrokruhy

## Disease

Normální endotel mozkových mikrocév (imortalizovaný pomocí hTERT a SV40; model hematoencefalické bariéry; netumorigenní)

## Metastatic site

Neplatí (normální buněčná linie mozkových endoteliálních buněk; nejedná se o nádorový vzorek)

## Applications

Výzkum hematoencefalické bariéry (BBB); neurozáněť; transport léčiv do centrálního nervového systému a jeho propustnost; transendoteliální migrace; biologie těsných spojů (claudin-5, occludin, ZO-1); modelování neurologických onemocnění; reakce na smykové napětí; testování neurotoxicity

## Synonyms

HCMEC/D3, CMEC/D3, lidské kortikální mikrovezikální endoteliální buňky/D3

## Charakteristika

## Age

Dospělí

## Gender

Ženy

## buňky hCMEC/D3 | 305024

**Ethnicity**      Není specifikováno**Morphology**    Endoteliální**Cell type**      Endoteliální buňka**Growth properties**    Adherentní**Regulační údaje****Citation**            hCMEC/D3 (katalogové číslo Cytion 305024)**Biosafety level**      1**NCBI\_TaxID**          9606**CellosaurusAccession**    CVCL\_U985**GMO Status**            GMO-S1: Tato linie lidských mikrovaskulárních endoteliálních buněk (hCMEC/D3) obsahuje lentivirové konstrukty kódující SV40 T-Antigen nebo hTERT, které podporují stabilní imortalizaci. Vložka je integrována do primárních endoteliálních buněk. Tato klasifikace platí pouze v Německu a jinde se může lišit.**Biomolekulární data****Viruses**                Transformant: Simian virus 40 (SV40)**Zpracování****Culture Medium**        EGM -2 MV Microvascular Endothelial Growth Cell Medium-2 BulletKit (od společnosti Lonza, katalogové číslo CC-3202)**Supplements**          Doplňte dodané základní médium EBM-2 podle doporučení výrobce**Dissociation Reagent**    Accutase nebo 0,25 % trypsin-EDTA (krátce; nevykonávejte nadměrnou trypsinaci)**Doubling time**         přibližně 24 až 36 hodin

**buňky hCMEC/D3 | 305024**

**Subculturing** Odstraňte médium, promyjte PBS bez  $\text{Ca}^{2+}/\text{Mg}^{2+}$ , přidejte Accutase (3–5 min při 37 °C), neutralizujte kompletním médiem, odstředte při 300×g po dobu 5 minut a znovu naočkejte v hustotě  $1-2 \times 10^4$  buněk/cm<sup>2</sup> do kolagenem potažených lahví.

**Split ratio** 1 až 3

**Seeding density**  $1 \text{ až } 2 \times 10^4$  buněk/cm<sup>2</sup> (na površích potažených kolagenem I)

**Fluid renewal** Každý 1 až 2 dny

**Freeze medium** Jako kryokonzervační médium používáme 50% základní médium + 40% FBS + 10% DMSO nebo CM-1 (katalogové číslo Cytion 800100), které obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory pro zlepšení regenerace a snížení stresu vyvolaného kryo.

**Thawing and Culturing Cells**

1. Ověřte si, že lahvička zůstane při dodání hluboce zmrazená, protože buňky se přepravují na suchém ledu, aby se během přepravy udržely optimální teploty.
2. Po obdržení kryovialku buď okamžitě uložte při teplotě nižší než -150 °C, abyste zajistili zachování buněčné integrity, nebo přejděte ke kroku 3, pokud je nutná okamžitá kultivace.
3. Pro okamžitou kultivaci rychle rozmrazte lahvičku ponořením do vodní lázně o teplotě 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálním prostředkem a jemně ji míchejte po dobu 40-60 sekund, dokud nezůstane malý ledový chuchvalec.
4. Všechny další kroky provádějte za sterilních podmínek v průtokové digestoři a před otevřením kryovialku dezinfikujte 70% ethanolem.
5. Opatrně otevřete dezinfikovanou lahvičku a přeneste buněčnou suspenzi do 15 ml centrifugační zkumavky obsahující 8 ml kultivačního média o pokojové teplotě a jemně promíchejte.
6. Směs odstředujte při 300 x g po dobu 3 minut, aby se buňky oddělily, a supernatant obsahující zbytky mrazicího média opatrně zlikvidujte.
7. Pelety buněk jemně resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačního média. U adherentních buněk rozdělte suspenzi mezi dvě kultivační baňky T25; u suspenzních kultur přeneste veškeré médium do jedné baňky T25, abyste podpořili účinnou interakci a růst buněk.
8. Dodržujte zavedené subkultivační protokoly pro kontinuální růst a udržování buněčné linie, čímž zajistíte spolehlivé výsledky experimentů.

## buňky hCMEC/D3 | 305024

**Incubation Atmosphere** 37 °C, 5 %<sub>CO2</sub>, zvlhčená atmosféra.

**Flask Coating** Žádný

**Freezing Procedure** Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

**Shipping Conditions** Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

**Storage Conditions** Pro dlouhodobé uchování umístěte lahvičky do kapalného dusíku v plynné fázi při teplotě přibližně -150 až -196 °C. Skladování při -80 °C je přijatelné pouze jako krátký přechodný krok před přemístěním do kapalného dusíku.

## Kontrola kvality / Genetický profil / HLA

**Sterility** Kontaminace mykoplazmaty je vyloučena jak pomocí testů založených na PCR, tak pomocí luminiscenčních metod detekce mykoplazmy.

Aby se zajistilo, že nedojde ke kontaminaci bakteriemi, plísněmi nebo kvasinkami, jsou buněčné kultury denně podrobovány vizuální kontrolám.