

hCMEC/D3-celler | 305024

Generel information

Description

HCMEC/D3-cellelinjen repræsenterer en udødeliggjort human cerebral mikrovaskulær endotelcellelinje, der i vid udstrækning anvendes i studiet af blod-hjerne-barrieren (BBB). Denne cellelinje blev genereret gennem transduktion af primære humane cerebrale mikrovaskulære endotelceller med en lentiviral vektor, der udtrykker human telomerase revers transkriptase (hTERT), et afgørende enzym for at opretholde telomerlængden og derved fremme cellulær levetid uden at ændre cellefænotypen. Introduktionen af hTERT hjælper disse celler med at omgå den replikative senescens, der begrænser levetiden for primære celler, hvilket muliggør vedvarende forering i kultur.

HCMEC/D3-celler bevarer vigtige fysiologiske og morfologiske egenskaber ved primære cerebrale endotelceller, hvilket gør dem til en værdifuld model for in vitro-studier af BBB. De udtrykker bl.a. tight junction-proteiner som claudin-5, occludin og zonula occludens-1, som er afgørende for at opretholde barriereintegriteten. Cellerne udtrykker også forskellige transportører og receptorer, der er typiske for det cerebrale endotel, hvilket understøtter deres anvendelse i studier relateret til lægemiddelafgivelse og neurovaskulære lidelser. HCMEC/D3's evne til at danne et tæt monolag med høj elektrisk modstand understreger deres egnethed til BBB-permeabilitetsanalyser.

Forskning med HCMEC/D3-celler har dækket en bred vifte af anvendelser, herunder undersøgelse af cerebrale patologier som slagtilfælde, multipel sklerose og metastase af kræft i hjernen. Deres kompatibilitet med forskellige molekylærbiologiske teknikker gør dem også til et fremragende værktøj til at studere endotelcellers respons på inflammatoriske stimuli, shear stress og neurotoksiske stoffer. Denne cellelinje giver en robust, reproducerbar platform til dissekering af de molekylære begivenheder på det cerebrale endotelniveau og bidrager med værdifuld indsigt i kompleksiteten af neurovaskulær sundhed og sygdom.

Organism

Menneske

Tissue

Hjerne, tindingelap, blodmikrokar

Disease

Normalt mikrovaskulært endotel i hjernen (hTERT- og SV40-immortaliseret; blod-hjerne-barriere-model; ikke-tumorigenisk)

Metastatic site

Ikke relevant (normal hjerneendotelcellelinje; ikke en tumorprøve)

Applications

Forskning i blod-hjerne-barrieren (BBB); neuroinflammation; lægemidlers transport til og permeabilitet i centralnervesystemet; transendotelial migration; biologien bag tætte samlinger (claudin-5, occludin, ZO-1); modellering af neurologiske sygdomme; reaktioner på forskydningsspænding; testning af neurotoksicitet

Synonyms

HCMEC/D3, CMEC/D3, humane kortikale mikrokar endotelceller/D3

Karakteristika

Age

Voksen

hCMEC/D3-celler | 305024

Gender	Kvinde
Ethnicity	Ikke specificeret
Morphology	Endothelial
Cell type	Endotelcelle
Growth properties	Vedhæftende

Regulatoriske data

Citation	hCMEC/D3 (Cytion katalognummer 305024)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_U985
GMO Status	GMO-S1: Denne humane mikrovaskulære endotelcellelinje (hCMEC/D3) indeholder lentivirale konstruktioner, der koder for SV40 T-Antigen eller hTERT, hvilket understøtter stabil udødeliggørelse. Indsatsen er integreret i primære endotelceller. Denne klassificering gælder kun i Tyskland og kan variere andre steder.

Biomolekylære data

Viruses	Transformant: Simian virus 40 (SV40)
----------------	--------------------------------------

Håndtering

Culture Medium	EGM -2 MV Microvascular Endothelial Cell Growth Medium-2 BulletKit (fra Lonza, Lonza-katalognummer CC-3202)
Supplements	Suppler det medfølgende EBM-2-basalmedium som anbefalet af producenten
Dissociation Reagent	Accutase eller 0,25 % trypsin-EDTA (kortvarigt; undgå overdreven trypsinering)
Doubling time	ca. 24 til 36 timer

hCMEC/D3-celler | 305024

Subculturing Fjern mediet, vask med PBS uden $\text{Ca}^{2+}/\text{Mg}^{2+}$, tilsæt Accutase (3–5 min ved 37 °C), neutraliser med komplet medium, centrifuger ved $300 \times g$ i 5 minutter, og udså igen med $1-2 \times 10^4$ celler/ cm^2 på kollagenbelagte kolber.

Split ratio 1 til 3

Seeding density 1 til 2×10^4 celler/ cm^2 (på overflader belagt med kollagen I)

Fluid renewal Hver 1. til 2. dag

Freeze medium Som kryopræservesmedium bruger vi 50 % basalmedium + 40 % FBS + 10 % DMSO eller CM-1 (Cytion katalognummer 800100), som indeholder optimerede osmobeskyttende midler og metaboliske stabilisatorer for at øge gendannelsen og reducere kryo-induceret stress.

Thawing and Culturing Cells

1. Bekræft, at hætteglasset forbliver dybfrosset ved levering, da cellerne sendes på tøris for at opretholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved modtagelsen skal du enten straks opbevare kryohætteglasset ved temperaturer under -150 °C for at sikre, at cellernes integritet bevares, eller gå videre til trin 3, hvis øjeblikkelig dyrkning er påkrævet.
3. Ved øjeblikkelig dyrkning optøs hætteglasset hurtigt ved at nedsænke det i et 37 °C varmt vandbad med rent vand og et antimikrobielt middel og røre forsigtigt i 40-60 sekunder, indtil der kun er en lille isklump tilbage.
4. Udfør alle efterfølgende trin under sterile forhold i en flowhætte, og desinficer kryovialet med 70 % ethanol, før det åbnes.
5. Åbn forsigtigt det desinficerede hætteglas, og overfør cellesuspensionen til et 15 ml centrifugerør, der indeholder 8 ml kulturmedium ved stuetemperatur, og bland forsigtigt.
6. Centrifuger blandingen ved $300 \times g$ i 3 minutter for at adskille cellerne, og kassér omhyggeligt supernatanten, der indeholder resterende frysemedium.
7. Resuspender forsigtigt cellepelleten i 10 ml frisk dyrkningsmedium. For klæbende celler deles suspensionen mellem to T25-kulturkolber; for suspensionskulturer overføres alt mediet til en T25-kolbe for at fremme effektiv celleinteraktion og -vækst.
8. Overhold etablerede subkulturprotokoller for fortsat vækst og vedligeholdelse af cellelinjen, hvilket sikrer pålidelige eksperimentelle resultater.

hCMEC/D3-celler | 305024

Incubation Atmosphere 37°C, 5% CO_2 , befugtet atmosfære.

Flask Coating Ingen

Freezing Procedure Kryopræservede cellelinjer sendes på tøris i valideret, isoleret emballage med tilstrækkeligt kølemiddel til at opretholde ca. -78 °C under hele transporten. Ved modtagelse skal beholderen straks inspiceres, og hætteglassene skal straks overføres til passende opbevaring.

Shipping Conditions Kryopræservede cellelinjer sendes på tøris i valideret, isoleret emballage med tilstrækkeligt kølemiddel til at opretholde ca. -78 °C under hele transporten. Ved modtagelse skal beholderen straks inspiceres, og hætteglassene skal straks overføres til passende opbevaring.

Storage Conditions For langtidsopbevaring anbringes hætteglas i flydende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Opbevaring ved -80 °C er kun acceptabelt som et kort mellemtrin før overførsel til flydende nitrogen.

Kvalitetskontrol / Genetisk profil / HLA

Sterility Mycoplasma-kontaminering udelukkes ved hjælp af både PCR-baserede assays og luminescensbaserede mycoplasma-detektionsmetoder.

For at sikre, at der ikke er nogen bakterie-, svampe- eller gærforurening, underkastes cellekulturerne daglige visuelle inspektioner.