

Bøj.3 Celler | 305265**Generel information****Description**

Bend.3-cellelinjen stammer fra musens hjerneendotelceller og bruges i vid udstrækning i neurovaskulær forskning. Disse celler fungerer som en model til undersøgelse af blod-hjerne-barrieren (BBB), en kritisk struktur, der regulerer passagen af stoffer fra blodbanen ind i hjernen. Bend.3-celler er medvirkende til at udforske de molekylære og cellulære mekanismer, der styrer BBB's integritet, permeabilitet og transportfunktioner. Forskere bruger Bend.3-celler til at undersøge patofysiologien ved forskellige neurologiske lidelser som f.eks. slagtilfælde, Alzheimers sygdom og multipel sklerose, hvor BBB-dysfunktion er et kendetegn.

Bend.3-celler udviser endotelegenskaber, herunder udtryk for tight junction-proteiner som occludin, claudin og zonula occludens-1 (ZO-1), som er afgørende for at opretholde den selektive permeabilitet i BBB. De udtrykker også markører som CD31 og von Willebrand-faktor, der er typiske for endotelceller. Bend.3-celler reagerer på inflammatoriske stimuli og oxidativ stress, hvilket gør dem velegnede til undersøgelser af BBB-forstyrrelser og neuroinflammation. Derudover bruges denne cellelinje til at vurdere effekten og sikkerheden af farmakologiske midler, der er beregnet til at krydse BBB, hvilket bidrager til udviklingen af behandlinger for lidelser i centralnervesystemet. Bend.3-cellernes anvendelighed til modellering af den neurovaskulære enhed understreger deres betydning for vores forståelse af hjernens endotelcellebiologi og udviklingen af neuroterapeutika.

Organism

Mus

Tissue

Hjerne, hjernebark

Disease

Endoteliom

Synonyms

bEND.3, b.End3, bEnd.3, bEnd3, BEND3, hjerneafledte endotelceller.3

Karakteristika**Breed/Subspecies**

BALB/c

Age

6 uger

Gender

Uspecificeret

Morphology

Endothelial

Cell type

Endotelcelle

Growth properties

Vedhæftende

Bøj.3 Celler | 305265**Regulatoriske data**

Citation	Bend.3 (Cytion katalognummer 305265)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	10090
CellosaurusAccession	CVCL_0170
GMO Status	GMO-S1: Denne murine endotelcellelinje (bEnd.3) indeholder et polyomavirus middle T-antigen kodet af den retrovirale NTKmT-vektor, der driver transformation og øget spredning. Konstruktionen er stabilt til stede i hjernens mikrovaskulære endotelceller. Denne klassifikation gælder kun i Tyskland og kan variere andre steder.

Biomolekylære data

Antigen expression	ICAM-1 +, VCAM-1 +, MAdCAM-1 +
Viruses	Transformant: Murin polyomavirus (stamme A2) (MPyV) midterste T-antigen (PyMT)

Håndtering

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/L glukose, w: 4 mM L-glutamin, w: 3,7 g/L NaHCO ₃ , w: 1,0 mM natriumpyruvat (Cytion artikelnummer 820300a)
Supplements	Suppler mediet med 10% FBS
Dissociation Reagent	Accutase

Subculturing Fjern det gamle medium fra de klæbende celler, og vask dem med PBS, der ikke indeholder calcium og magnesium. Brug 3-5 ml PBS til T25-kolber og 5-10 ml til T75-kolber. Dæk derefter cellerne helt med Accutase, brug 1-2 ml til T25-kolber og 2,5 ml til T75-kolber. Lad cellerne inkubere ved stuetemperatur i 8-10 minutter for at løsne dem. Efter inkubationen blandes cellerne forsigtigt med 10 ml medium for at resuspendere dem, og centrifugeres derefter ved 300xg i 3 minutter. Kassér supernatanten, resuspend cellerne i frisk medium, og overfør dem til nye kolber, der allerede indeholder frisk medium.

Freeze medium Som kryopræservationsmedium bruger vi komplet vækstmedium (inklusive FBS) + 10 % DMSO for tilstrækkelig levedygtighed efter optøning eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som indeholder optimerede osmobeskyttende stoffer og metaboliske stabilisatorer for at forbedre genopretningen og reducere kryoinduceret stress.

Bøj.3 Celler | 305265

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 $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ 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 $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ 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.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 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. $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ 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. $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hele transporten. Ved modtagelse skal beholderen straks inspiceres, og hætteglassene skal straks overføres til passende opbevaring.

Bøj.3 Celler | 305265

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.