

hCMEC/D3-Zellen | 305024

Allgemeine Informationen

Description

Bei der HCMEC/D3-Zelllinie handelt es sich um eine immortalisierte humane zerebrale mikrovaskuläre Endothelzelllinie, die bei der Erforschung der Blut-Hirn-Schranke (BHS) ausgiebig eingesetzt wird. Diese Zelllinie wurde durch die Transduktion primärer menschlicher mikrovaskulärer Hirnendothelzellen mit einem lentiviralen Vektor erzeugt, der humane Telomerase-Reverse-Transkriptase (hTERT) exprimiert, ein entscheidendes Enzym für die Aufrechterhaltung der Telomerlänge, das die Langlebigkeit der Zellen fördert, ohne den Phänotyp der Zellen zu verändern. Die Einführung von hTERT hilft diesen Zellen, die replikative Seneszenz zu umgehen, die die Lebensspanne von Primärzellen begrenzt, und ermöglicht eine anhaltende Vermehrung in der Kultur.

HCMEC/D3-Zellen behalten wichtige physiologische und morphologische Merkmale primärer zerebraler Endothelzellen bei, was sie zu einem wertvollen Modell für In-vitro-Studien der BHS macht. Dazu gehört die Expression von Tight-Junction-Proteinen wie Claudin-5, Occludin und Zonula Occludens-1, die für die Aufrechterhaltung der Integrität der Barriere entscheidend sind. Die Zellen exprimieren auch verschiedene Transporter und Rezeptoren, die für das zerebrale Endothel typisch sind, was ihre Verwendung in Studien zur Medikamentenverabreichung und zu neurovaskulären Störungen unterstützt. Die Fähigkeit von HCMEC/D3, einen dichten Monolayer mit hohem elektrischem Widerstand zu bilden, unterstreicht ihre Eignung für Permeabilitätstests der BHS.

Die Forschung mit HCMEC/D3-Zellen deckt ein breites Spektrum von Anwendungen ab, darunter die Untersuchung von Hirnpathologien wie Schlaganfall, Multiple Sklerose und Metastasenbildung von Krebs im Gehirn. Ihre Kompatibilität mit verschiedenen molekularbiologischen Techniken macht sie auch zu einem ausgezeichneten Instrument für die Untersuchung der Reaktionen von Endothelzellen auf Entzündungsreize, Scherstress und neurotoxische Substanzen. Diese Zelllinie bietet eine robuste, reproduzierbare Plattform für die Untersuchung der molekularen Vorgänge auf der Ebene des zerebralen Endothels und trägt so zu wertvollen Erkenntnissen über die Komplexität der neurovaskulären Gesundheit und Krankheit bei.

Organism

Menschen

Tissue

Gehirn, Schläfenlappen, Blutmikrogefäße

Disease

Normales zerebrales mikrovaskuläres Endothel (hTERT- und SV40-immortalisiert; Blut-Hirn-Schranken-Modell; nicht tumorigen)

Metastatic site

Nicht zutreffend (normale Hirnendothelzelllinie; keine Tumorprobe)

Applications

Forschung zur Blut-Hirn-Schranke (BHS); Neuroinflammation; Wirkstofftransport ins ZNS und Permeabilität; transendotheliale Migration; Biologie der Tight Junctions (Claudin-5, Occludin, ZO-1); Modellierung neurologischer Erkrankungen; Reaktionen auf Scherspannung; Neurotoxizitätstests

Synonyms

HCMEC/D3, CMEC/D3, menschliche kortikale Mikrogefäß-Endothelzellen/D3

Merkmale

hCMEC/D3-Zellen | 305024

Age	Erwachsener
Gender	Weiblich
Ethnicity	Keine Angaben
Morphology	Endothelium
Cell type	Endothelzelle
Growth properties	Adhärent

Regulatorische Daten

Citation	hCMEC/D3 (Cytion-Katalognummer 305024)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_U985
GMO Status	GMO-S1: Diese menschliche mikrovaskuläre Endothelzelllinie (hCMEC/D3) enthält lentivirale Konstrukte, die für SV40 T-Antigen oder hTERT kodieren und eine stabile Immortalisierung unterstützen. Das Insert wird in primäre Endothelzellen integriert. Diese Klassifizierung gilt nur innerhalb Deutschlands und kann in anderen Ländern abweichen.

Biomolekulare Daten

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

Handhabung

Culture Medium	EGM -2 MV Microvascular Endothelial Cell Growth Medium-2 BulletKit (von Lonza, Lonza Katalognummer CC-3202)
Supplements	Ergänzen Sie das mitgelieferte EBM-2 Basalmedium wie vom Hersteller empfohlen
Dissociation Reagent	Accutase oder 0,25 % Trypsin-EDTA (kurz; nicht zu lange mit Trypsin behandeln)

hCMEC/D3-Zellen | 305024

Doubling time ca. 24 bis 36 Stunden

Subculturing Medium entfernen, mit PBS ohne Ca^{2+} / Mg^{2+} waschen, Accutase hinzufügen (3–5 min bei 37 °C), mit Kompletmedium neutralisieren, 300×g 5 min zentrifugieren, mit $1\text{--}2 \times 10^4$ Zellen/ cm^2 in kollagenbeschichtete Flaschen ausplattieren.

Split ratio 1 bis 3

Seeding density 1 bis 2×10^4 Zellen/ cm^2 (auf mit Kollagen I beschichteten Oberflächen)

Fluid renewal Alle 1 bis 2 Tage

Freeze medium Als Kryokonservierungsmedium verwenden wir 50 % Basalmedium + 40 % FBS + 10 % DMSO oder CM-1 (Cytion-Katalognummer 800100), das optimierte Osmoprotektiva und Stoffwechselstabilisatoren enthält, um die Erholung zu verbessern und den kryoinduzierten Stress zu verringern.

hCMEC/D3-Zellen | 305024

Thawing and Culturing Cells

1. Vergewissern Sie sich, dass das Fläschchen bei der Lieferung tiefgefroren ist, da die Zellen auf Trockeneis versandt werden, um während des Transports optimale Temperaturen zu erhalten.
2. Lagern Sie das Kryofläschchen nach Erhalt entweder sofort bei Temperaturen unter $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, um die Unversehrtheit der Zellen zu gewährleisten, oder fahren Sie mit Schritt 3 fort, wenn eine sofortige Kultivierung erforderlich ist.
3. Für eine sofortige Kultivierung tauen Sie das Fläschchen schnell auf, indem Sie es in ein 37°C warmes Wasserbad mit sauberem Wasser und einem antimikrobiellen Mittel eintauchen und 40-60 Sekunden lang vorsichtig schütteln, bis ein kleiner Eisklumpen zurückbleibt.
4. Führen Sie alle weiteren Schritte unter sterilen Bedingungen in einer Abzugshaube durch und desinfizieren Sie das Kryo-Fläschchen vor dem Öffnen mit 70%igem Ethanol.
5. Das desinfizierte Fläschchen vorsichtig öffnen und die Zellsuspension unter vorsichtigem Mischen in ein 15-ml-Zentrifugenröhrchen mit 8 ml Kulturmedium bei Raumtemperatur überführen.
6. Zentrifugieren Sie das Gemisch 3 Minuten lang bei $300 \times g$, um die Zellen abzutrennen, und werfen Sie den Überstand mit dem restlichen Gefriermedium vorsichtig.
7. Das Zellpellet vorsichtig in 10 ml frischem Kulturmedium resuspendieren. Bei adhären Zellen die Suspension auf zwei T25-Kulturflaschen aufteilen; bei Suspensionskulturen das gesamte Medium in eine T25-Flasche überführen, um eine effektive Zellinteraktion und ein effektives Wachstum zu fördern.
8. Halten Sie sich an die festgelegten Subkulturprotokolle, um ein kontinuierliches Wachstum und die Aufrechterhaltung der Zelllinie zu gewährleisten und zuverlässige Versuchsergebnisse zu erzielen.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , befeuchtete Atmosphäre.

Flask Coating

Keine

Freezing Procedure

Kryokonservierte Zelllinien werden auf Trockeneis in einer validierten, isolierten Verpackung mit ausreichend Kühlmittel versandt, um während des gesamten Transports eine Temperatur von etwa $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ aufrechtzuerhalten. Prüfen Sie den Behälter bei Erhalt sofort und bringen Sie die Fläschchen unverzüglich in ein geeignetes Lager.

hCMEC/D3-Zellen | 305024

Shipping Conditions

Kryokonservierte Zelllinien werden auf Trockeneis in einer validierten, isolierten Verpackung mit ausreichend Kühlmittel versandt, um während des gesamten Transports eine Temperatur von etwa -78 °C aufrechtzuerhalten. Prüfen Sie den Behälter bei Erhalt sofort und bringen Sie die Fläschchen unverzüglich in ein geeignetes Lager.

Storage Conditions

Zur Langzeitkonservierung werden die Fläschchen in flüssigem Stickstoff bei etwa -150 bis -196 °C gelagert. Eine Lagerung bei -80 °C ist nur als kurzer Zwischenschritt vor der Überführung in flüssigen Stickstoff akzeptabel.

Qualitätskontrolle / Genetisches Profil / HLA

Sterility

Eine Kontamination mit Mykoplasmen wird sowohl durch PCR-basierte Assays als auch durch lumineszenzbasierte Mykoplasmen-Nachweisverfahren ausgeschlossen.

Um sicherzustellen, dass keine Kontamination mit Bakterien, Pilzen oder Hefen vorliegt, werden die Zellkulturen täglich visuell überprüft.