

κύτταρα hCMEC/D3 | 305024

Γενικές πληροφορίες

Description

Η κυτταρική σειρά hCMEC/D3 αντιπροσωπεύει μια αθάνατη σειρά ανθρώπινων ενδοθηλιακών κυττάρων εγκεφαλικών μικροαγγείων, που χρησιμοποιείται ευρέως στη μελέτη του αιματοεγκεφαλικού φραγμού (BBB). Η εν λόγω κυτταρική σειρά δημιουργήθηκε μέσω της μεταγωγής πρωτογενών ανθρώπινων ενδοθηλιακών κυττάρων εγκεφαλικών μικροαγγειακών αγγείων με έναν λεντιϊικό φορέα που εκφράζει την ανθρώπινη αντίστροφη μεταγραφάση τελομεράσης (hTERT), ένα κρίσιμο ένζυμο για τη διατήρηση του μήκους των τελομερών και την προώθηση έτσι της κυτταρικής μακροζωίας χωρίς μετασχηματισμό του κυτταρικού φαινοτύπου. Η εισαγωγή του hTERT βοηθά τα κύτταρα αυτά να παρακάμψουν την αναπαραγωγική γήρανση που περιορίζει τη διάρκεια ζωής των πρωτογενών κυττάρων, επιτρέποντας τον διαρκή πολλαπλασιασμό σε καλλιέργεια.

Τα κύτταρα hCMEC/D3 διατηρούν βασικά φυσιολογικά και μορφολογικά χαρακτηριστικά των πρωτογενών εγκεφαλικών ενδοθηλιακών κυττάρων, καθιστώντας τα πολύτιμο μοντέλο για in vitro μελέτες του BBB. Σε αυτά περιλαμβάνεται η έκφραση πρωτεϊνών στενής σύνδεσης όπως η claudin-5, η occludin και η zonula occludens-1, οι οποίες είναι κρίσιμες για τη διατήρηση της ακεραιότητας του φραγμού. Τα κύτταρα εκφράζουν επίσης διάφορους μεταφορείς και υποδοχείς τυπικούς για το εγκεφαλικό ενδοθήλιο, υποστηρίζοντας τη χρήση τους σε μελέτες που σχετίζονται με τη χορήγηση φαρμάκων και τις νευροαγγειακές διαταραχές. Η ικανότητα των hCMEC/D3 να σχηματίζουν μια σφιχτή μονοστιβάδα με υψηλή ηλεκτρική αντίσταση υπογραμμίζει την καταλληλότητά τους για δοκιμές διαπερατότητας του BBB.

Η έρευνα που χρησιμοποιεί κύτταρα hCMEC/D3 έχει καλύψει ένα ευρύ φάσμα εφαρμογών, συμπεριλαμβανομένης της διερεύνησης εγκεφαλικών παθολογιών όπως το εγκεφαλικό επεισόδιο, η σκλήρυνση κατά πλάκας και η μετάσταση του καρκίνου στον εγκέφαλο. Η συμβατότητά τους με διάφορες τεχνικές μοριακής βιολογίας τα καθιστά επίσης ένα εξαιρετικό εργαλείο για τη μελέτη των αποκρίσεων των ενδοθηλιακών κυττάρων σε φλεγμονώδη ερεθίσματα, διατημητικό στρες και νευροτοξικές ουσίες. Αυτή η κυτταρική σειρά παρέχει μια ισχυρή, αναπαραγωγίμη πλατφόρμα για την ανάλυση των μοριακών συμβάντων στο επίπεδο του εγκεφαλικού ενδοθηλίου, συμβάλλοντας σε πολύτιμες γνώσεις σχετικά με την πολυπλοκότητα της νευροαγγειακής υγείας και της νόσου.

Organism

Ανθρώπινο

Tissue

Εγκέφαλος, κροταφικός λοβός, μικροαγγείο αίματος

Disease

Φυσιολογικό ενδοθήλιο των μικροαγγείων του εγκεφάλου (αθανатоποιημένο με hTERT και SV40· μοντέλο αιματοεγκεφαλικού φραγμού· μη ογκογόνο)

Metastatic site

Δεν ισχύει (φυσιολογική σειρά κυττάρων του ενδοθηλίου του εγκεφάλου· δεν πρόκειται για δείγμα όγκου)

Applications

Έρευνα σχετικά με τον αιματοεγκεφαλικό φραγμό (BBB)· νευροφλεγμονή· χορήγηση φαρμάκων στο ΚΝΣ και διαπερατότητα· διαενδοθηλιακή μετανάστευση· βιολογία των στενών συνδέσεων (κλαουδίνη-5, οκλουδίνη, ZO-1)· μοντελοποίηση νευρολογικών παθήσεων· αντιδράσεις σε διατημητική τάση· δοκιμές νευροτοξικότητας

Synonyms

hCMEC/D3, CMEC/D3, ανθρώπινα ενδοθηλιακά κύτταρα φλοιώδους μικροαγγείου/D3

κύτταρα hCMEC/D3 | 305024

Χαρακτηριστικά

Age	Ενηλίκων
Gender	Γυναίκα
Ethnicity	Δεν προσδιορίζεται
Morphology	Ενδοθηλιακό
Cell type	Ενδοθηλιακό κύτταρο
Growth properties	Προσκολλημένο

Ρυθμιστικά δεδομένα

Citation	hCMEC/D3 (αριθμός καταλόγου Cytion 305024)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_U985
GMO Status	ΓΤΟ-S1: Αυτή η σειρά ανθρώπινων μικροαγγειακών ενδοθηλιακών κυττάρων (hCMEC/D3) περιέχει λεντιϊκές κατασκευές που κωδικοποιούν το SV40 T-Antigen ή το hTERT, υποστηρίζοντας τη σταθερή αθανασία. Το ένθετο ενσωματώνεται σε πρωτογενή ενδοθηλιακά κύτταρα. Η ταξινόμηση αυτή ισχύει μόνο εντός της Γερμανίας και ενδέχεται να διαφέρει αλλού.

Βιομοριακά δεδομένα

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

Χειρισμός

Culture Medium	EGM -2 MV Microvascular Endothelial Cell Growth Medium-2 BulletKit (από τη Lonza, αριθμός καταλόγου Lonza CC-3202)
Supplements	Συμπληρώστε το παρεχόμενο βασικό μέσο EBM-2 όπως συνιστάται από τον κατασκευαστή

κύτταρα hCMEC/D3 | 305024

Dissociation Reagent	Accutase ή τρυψίνη-EDTA 0,25% (σύντομη επεξεργασία· μην υπερβάλλετε με την τρυψίνη)
Doubling time	περίπου 24 έως 36 ώρες
Subculturing	Απομακρύνετε το μέσο, πλύνετε με PBS χωρίς $\text{Ca}^{2+}/\text{Mg}^{2+}$, προσθέστε Accutase (3–5 λεπτά στους 37 °C), εξουδετερώστε με πλήρες μέσο, φυγοκεντρήστε στα 300×g για 5 λεπτά, επανασπέρνετε σε πυκνότητα $1-2 \times 10^4$ κύτταρα/cm ² σε φιάλες επικαλυμμένες με κολλαγόνο.
Split ratio	1 έως 3
Seeding density	$1 \text{ έως } 2 \times 10^4$ κύτταρα/cm ² (σε επιφάνειες επικαλυμμένες με κολλαγόνο I)
Fluid renewal	Κάθε 1 έως 2 ημέρες
Freeze medium	Ως μέσο κρυοσυντήρησης, χρησιμοποιούμε 50% βασικό μέσο + 40% FBS + 10% DMSO ή CM-1 (αριθμός καταλόγου Cytion 800100), το οποίο περιλαμβάνει βελτιστοποιημένα ωσμοπροστατευτικά και μεταβολικούς σταθεροποιητές για την ενίσχυση της ανάκαμψης και τη μείωση του στρες που προκαλείται από την κρυοσυντήρηση.

κύτταρα hCMEC/D3 | 305024

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Επιβεβαιώστε ότι το φιαλίδιο παραμένει βαθιά παγωμένο κατά την παράδοση, καθώς τα κύτταρα αποστέλλονται σε ξηρό πάγο για να διατηρούνται οι βέλτιστες θερμοκρασίες κατά τη μεταφορά.
2. Κατά την παραλαβή, είτε αποθηκεύστε το κρουφιαλίδιο αμέσως σε θερμοκρασίες κάτω των -150°C για να διασφαλίσετε τη διατήρηση της κυτταρικής ακεραιότητας, είτε προχωρήστε στο βήμα 3 εάν απαιτείται άμεση καλλιέργεια.
3. Για άμεση καλλιέργεια, αποψύξτε γρήγορα το φιαλίδιο βυθίζοντάς το σε υδατόλουτρο 37°C με καθαρό νερό και αντιμικροβιακό παράγοντα, αναδεύοντας απαλά για 40-60 δευτερόλεπτα μέχρι να παραμείνει ένα μικρό σβόλο πάγου.
4. Εκτελέστε όλα τα επόμενα βήματα υπό αποστειρωμένες συνθήκες σε απορροφητήρα ροής, απολυμαίνοντας το κρουφιαλίδιο με 70% αιθανόλη πριν από το άνοιγμα.
5. Ανοίξτε προσεκτικά το απολυμασμένο φιαλίδιο και μεταφέρετε το εναιώρημα των κυττάρων σε ένα σωληνάριο φυγοκέντρησης των 15 ml που περιέχει 8 ml θρεπτικού μέσου καλλιέργειας σε θερμοκρασία δωματίου, αναμειγνύοντας απαλά.
6. Φυγοκεντρίστε το μείγμα στα 300 x g για 3 λεπτά για να διαχωριστούν τα κύτταρα και απορρίψτε προσεκτικά το υπερκείμενο που περιέχει το υπόλοιπο μέσο κατάψυξης.
7. Επανασυσσωματώστε απαλά το κυτταρικό σφαιρίδιο σε 10 ml φρέσκου μέσου καλλιέργειας. Για προσκολλημένα κύτταρα, μοιράστε το εναιώρημα σε δύο φιάλες καλλιέργειας T25- για καλλιέργειες εναιωρήματος, μεταφέρετε όλο το μέσο σε μία φιάλη T25 για να προωθήσετε την αποτελεσματική αλληλεπίδραση και ανάπτυξη των κυττάρων.
8. Τηρείτε τα καθιερωμένα πρωτόκολλα υποκαλλιέργειας για τη συνεχή ανάπτυξη και διατήρηση της κυτταρικής σειράς, εξασφαλίζοντας αξιόπιστα πειραματικά αποτελέσματα.

**Incubation
Atmosphere**

37°C , 5% CO_2 , υγραποιημένη ατμόσφαιρα.

Flask Coating

Κανένα

**Freezing
Procedure**

Οι κρουσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των -78°C καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.

κύτταρα hCMEC/D3 | 305024

Shipping Conditions

Οι κρυοσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των -78°C καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.

Storage Conditions

Για μακροχρόνια συντήρηση, τοποθετήστε τα φιαλίδια σε υγρό άζωτο σε φάση ατμών σε θερμοκρασία περίπου -150 έως -196°C . Η αποθήκευση στους -80°C είναι αποδεκτή μόνο ως σύντομο ενδιάμεσο βήμα πριν από τη μεταφορά σε υγρό άζωτο.

Ποιοτικός έλεγχος / Γενετικό προφίλ / HLA

Sterility

Η μόλυνση από μυκόπλασμα αποκλείεται με τη χρήση τόσο των δοκιμασιών που βασίζονται στην PCR όσο και των μεθόδων ανίχνευσης μυκοπλάσματος με βάση τη φωταύγεια.

Για να διασφαλιστεί ότι δεν υπάρχει μόλυνση από βακτήρια, μύκητες ή ζύμες, οι κυτταροκαλλιέργειες υποβάλλονται σε καθημερινές οπτικές επιθεωρήσεις.