

**Bend.3 Κύτταρα | 305265****Γενικές πληροφορίες****Description**

Η κυτταρική σειρά Bend.3 προέρχεται από ενδοθηλιακά κύτταρα του εγκεφάλου ποντικού και χρησιμοποιείται ευρέως στη νευροαγγειακή έρευνα. Τα κύτταρα αυτά χρησιμεύουν ως μοντέλο για τη μελέτη του αιματοεγκεφαλικού φραγμού (BBB), μιας κρίσιμης δομής που ρυθμίζει τη διέλευση ουσιών από την κυκλοφορία του αίματος στον εγκέφαλο. Τα κύτταρα Bend.3 διαδραματίζουν καθοριστικό ρόλο στη διερεύνηση των μοριακών και κυτταρικών μηχανισμών που διέπουν την ακεραιότητα, τη διαπερατότητα και τις λειτουργίες μεταφοράς του BBB. Οι ερευνητές χρησιμοποιούν κύτταρα Bend.3 για να διερευνήσουν την παθοφυσιολογία διαφόρων νευρολογικών διαταραχών, όπως το εγκεφαλικό επεισόδιο, η νόσος του Alzheimer και η σκλήρυνση κατά πλάκας, όπου η δυσλειτουργία του BBB αποτελεί χαρακτηριστικό γνώρισμα.

Τα κύτταρα Bend.3 παρουσιάζουν ενδοθηλιακά χαρακτηριστικά, συμπεριλαμβανομένης της έκφρασης πρωτεϊνών στενής σύνδεσης, όπως η αποκλουδίνη, οι κλοντίνες και η zonula occludens-1 (ZO-1), οι οποίες είναι απαραίτητες για τη διατήρηση της επιλεκτικής διαπερατότητας του BBB. Εκφράζουν επίσης δείκτες όπως το CD31 και ο παράγοντας von Willebrand, χαρακτηριστικοί των ενδοθηλιακών κυττάρων. Τα κύτταρα Bend.3 ανταποκρίνονται σε φλεγμονώδη ερεθίσματα και οξειδωτικό στρες, γεγονός που τα καθιστά κατάλληλα για μελέτες σχετικά με τη διαταραχή του BBB και τη νευροφλεγμονή. Επιπλέον, αυτή η κυτταρική σειρά χρησιμοποιείται για την αξιολόγηση της αποτελεσματικότητας και της ασφάλειας των φαρμακολογικών παραγόντων που προορίζονται να διασχίσουν τον BBB, βοηθώντας στην ανάπτυξη θεραπειών για διαταραχές του κεντρικού νευρικού συστήματος. Η χρησιμότητα των κυττάρων Bend.3 στη μοντελοποίηση της νευροαγγειακής μονάδας υπογραμμίζει τη σημασία τους για την προώθηση της κατανόησης της βιολογίας των ενδοθηλιακών κυττάρων του εγκεφάλου και την ανάπτυξη νευροθεραπευτικών ουσιών.

**Organism**

Ποντίκι

**Tissue**

Εγκέφαλος, εγκεφαλικός φλοιός

**Disease**

Ενδοθηλίωμα

**Synonyms**

bEND.3, b.End3, bEnd.3, bEnd3, BEND3, ενδοθηλιακά κύτταρα προερχόμενα από τον εγκέφαλο.3

**Χαρακτηριστικά****Breed/Subspecies**

BALB/c

**Age**

6 εβδομάδες

**Gender**

Απροσδιόριστο

**Morphology**

Ενδοθηλιακό

**Cell type**

Ενδοθηλιακό κύτταρο

**Bend.3 Κύτταρα | 305265****Growth properties**

Προσκολλημένο

**Ρυθμιστικά δεδομένα****Citation** Bend.3 (αριθμός καταλόγου Cytion 305265)**Biosafety level** 1**NCBI\_TaxID** 10090**CellosaurusAccession** CVCL\_0170**GMO Status** GMO-S1: Αυτή η σειρά ενδοθηλιακών κυττάρων ποντικού (bEnd.3) περιέχει ένα αντιγόνο πολυμοιόμορφου μέσου T που κωδικοποιείται από τον ρετροϊικό φορέα NTKmT, οδηγώντας σε μετασχηματισμό και ενισχυμένο πολλαπλασιασμό. Το κατασκεύασμα είναι σταθερά παρόν σε ενδοθηλιακά κύτταρα μικροαγγείων του εγκεφάλου. Αυτή η ταξινόμηση ισχύει μόνο εντός της Γερμανίας και ενδέχεται να διαφέρει αλλού.**Βιομοριακά δεδομένα****Antigen expression** ICAM-1 +, VCAM-1 +, MAdCAM-1 +**Viruses** Μετασχηματιστής: (στέλεχος A2) (MPyV) μεσαίο T αντιγόνο (PyMT)**Χειρισμός****Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/L γλυκόζη, w: 4 mM L-γλουταμίνη, w: 3,7 g/L NaHCO<sub>3</sub>, w: 1,0 mM πυρροβικό νάτριο (αριθμός άρθρου Cytion 820300a)**Supplements** Συμπληρώστε το μέσο με 10% FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Αφαιρέστε το παλιό μέσο από τα προσκολλημένα κύτταρα και πλύντε τα με PBS που δεν περιέχει ασβέστιο και μαγνήσιο. Για φιάλες T25, χρησιμοποιήστε 3-5 ml PBS και για φιάλες T75, χρησιμοποιήστε 5-10 ml. Στη συνέχεια, καλύψτε πλήρως τα κύτταρα με Accutase, χρησιμοποιώντας 1-2 ml για φιάλες T25 και 2,5 ml για φιάλες T75. Αφήστε τα κύτταρα να επωαστούν σε θερμοκρασία δωματίου για 8-10 λεπτά για να αποκολληθούν. Μετά την επώαση, αναμείξτε απαλά τα κύτταρα με 10 ml μέσου για να ανασυσταθούν και, στη συνέχεια, φυγοκεντρίστε στα 300xg για 3 λεπτά. Απορρίψτε το υπερκείμενο υγρό, ανασυστάστε τα κύτταρα σε φρέσκο μέσο και μεταφέρετέ τα σε νέες φιάλες που περιέχουν ήδη φρέσκο μέσο.

**Bend.3 Κύτταρα | 305265****Freeze medium**

Ως μέσο κρυοσυντήρησης, χρησιμοποιούμε πλήρες μέσο ανάπτυξης (συμπεριλαμβανομένου του FBS) + 10% DMSO για επαρκή βιωσιμότητα μετά την απόψυξη, 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.

**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 κρυοφιαλίδιο αμέσως σε θερμοκρασίες κάτω των  $-150^{\circ}\text{C}$  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  $37^{\circ}\text{C}$  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 κρυοφιαλίδιο 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  $300 \times g$  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**

$37^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , υγραποιημένη ατμόσφαιρα.

**Flask Coating**

Για βέλτιστη προσκόλληση και βιωσιμότητα μετά την απόψυξη, συνιστούμε τη χρήση **φιαλών ή πλακών με επικάλυψη κολλαγόνου**.

## Bend.3 Κύτταρα | 305265

### Freezing Procedure

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

### Shipping Conditions

Οι κρυοσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των  $-78^{\circ}\text{C}$  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  $-196^{\circ}\text{C}$ . Η αποθήκευση στους  $-80^{\circ}\text{C}$  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.