

## células hCMEC/D3 | 305024

## Información general

## Description

La línea celular HCMEC/D3 representa una línea celular endotelial microvascular cerebral humana inmortalizada, ampliamente utilizada en el estudio de la barrera hematoencefálica (BHE). Esta línea celular se generó mediante la transducción de células endoteliales microvasculares cerebrales humanas primarias con un vector lentiviral que expresa la transcriptasa inversa de la telomerasa humana (hTERT), una enzima crucial para mantener la longitud de los telómeros y promover así la longevidad celular sin transformar el fenotipo celular. La introducción de hTERT ayuda a estas células a eludir la senescencia replicativa que limita la vida útil de las células primarias, permitiendo su propagación sostenida en cultivo.

Las células HCMEC/D3 conservan características fisiológicas y morfológicas clave de las células endoteliales cerebrales primarias, lo que las convierte en un modelo valioso para los estudios in vitro de la BHE. Entre ellas se incluye la expresión de proteínas de unión estrecha como la claudina-5, la ocludina y la zónula ocludens-1, que son fundamentales para mantener la integridad de la barrera. Las células también expresan varios transportadores y receptores típicos del endotelio cerebral, lo que respalda su uso en estudios relacionados con la administración de fármacos y los trastornos neurovasculares. La capacidad de las HCMEC/D3 para formar una monocapa hermética con alta resistencia eléctrica subraya su idoneidad para los ensayos de permeabilidad de la BBB.

La investigación con células HCMEC/D3 ha abarcado una amplia gama de aplicaciones, incluida la investigación de patologías cerebrales como el ictus, la esclerosis múltiple y la metástasis del cáncer en el cerebro. Su compatibilidad con diversas técnicas de biología molecular también las convierte en una herramienta excelente para estudiar las respuestas de las células endoteliales a estímulos inflamatorios, estrés de cizallamiento y sustancias neurotóxicas. Esta línea celular proporciona una plataforma robusta y reproducible para diseccionar los acontecimientos moleculares a nivel endotelial cerebral, aportando valiosos conocimientos sobre las complejidades de la salud y la enfermedad neurovascular.

**Organism** Humano

**Tissue** Cerebro, lóbulo temporal, microvasos sanguíneos

**Disease** Endotelio microvascular cerebral normal (inmortalizado con hTERT y SV40; modelo de barrera hematoencefálica; no tumorigénico)

**Metastatic site** No aplicable (línea celular endotelial cerebral normal; no es una muestra tumoral)

**Applications** Investigación sobre la barrera hematoencefálica (BHE); neuroinflamación; administración de fármacos en el SNC y permeabilidad; migración transendotelial; biología de las uniones estrechas (claudina-5, ocludina, ZO-1); modelización de enfermedades neurológicas; respuestas al esfuerzo de cizallamiento; ensayos de neurotoxicidad

**Synonyms** HCMEC/D3, CMEC/D3, células endoteliales de microvasos corticales humanas/D3

## Características

**células hCMEC/D3 | 305024**

<b>Age</b>	Adultos
<b>Gender</b>	Mujer
<b>Ethnicity</b>	No especificado
<b>Morphology</b>	Endotelial
<b>Cell type</b>	Célula endotelial
<b>Growth properties</b>	Adherente

**Datos reglamentarios**

<b>Citation</b>	hCMEC/D3 (número de catálogo de Cytion 305024)
<b>Biosafety level</b>	1
<b>NCBI_TaxID</b>	9606
<b>CellosaurusAccession</b>	CVCL_U985
<b>GMO Status</b>	GMO-S1: Esta línea de células endoteliales microvasculares humanas (hCMEC/D3) contiene construcciones lentivirales que codifican SV40 T-Antigen o hTERT, apoyando la inmortalización estable. El inserto se integra en células endoteliales primarias. Esta clasificación sólo se aplica en Alemania y puede diferir en otros países.

**Datos biomoleculares**

<b>Viruses</b>	Transformante: Virus simia 40 (SV40)
----------------	--------------------------------------

**Manejo de**

<b>Culture Medium</b>	EGM -2 MV Microvascular Endothelial Cell Growth Medium-2 BulletKit (de Lonza, número de catálogo de Lonza CC-3202)
<b>Supplements</b>	Complemente el medio basal EBM-2 suministrado según las recomendaciones del fabricante
<b>Dissociation Reagent</b>	Accutase o tripsina-EDTA al 0,25 % (brevemente; no se debe tripsinar en exceso)

## células hCMEC/D3 | 305024

**Doubling time**      entre 24 y 36 horas, aproximadamente

**Subculturing**      Retirar el medio, lavar con PBS sin  $\text{Ca}^{2+}/\text{Mg}^{2+}$ , añadir Accutase (3-5 min a 37 °C), neutralizar con medio completo, centrifugar a  $300 \times g$  durante 5 min y volver a sembrar a una densidad de  $1-2 \times 10^4$  células/cm<sup>2</sup> en frascos recubiertos de colágeno.

**Split ratio**      Del 1 al 3

**Seeding density**      De  $1$  a  $2 \times 10^4$  células/cm<sup>2</sup> (en superficies recubiertas de colágeno I)

**Fluid renewal**      Cada 1 o 2 días

**Freeze medium**      Como medio de criopreservación, utilizamos 50% de medio basal + 40% de FBS + 10% de DMSO, o CM-1 (número de catálogo 800100 de Cytion), que incluye osmoprotectores optimizados y estabilizadores metabólicos para mejorar la recuperación y reducir el estrés criointducido.

## células hCMEC/D3 | 305024

### Thawing and Culturing Cells

1. Confirme que el vial permanece profundamente congelado en el momento de la entrega, ya que las células se envían en hielo seco para mantener temperaturas óptimas durante el transporte.
2. Tras la recepción, almacene el criovial inmediatamente a temperaturas inferiores a  $-150^{\circ}\text{C}$  para garantizar la conservación de la integridad celular, o proceda al paso 3 si se requiere el cultivo inmediato.
3. Para el cultivo inmediato, descongele rápidamente el vial sumergiéndolo en un baño de agua a  $37^{\circ}\text{C}$  con agua limpia y un agente antimicrobiano, agitando suavemente durante 40-60 segundos hasta que quede un pequeño grumo de hielo.
4. Realice todos los pasos siguientes en condiciones estériles en una campana de flujo, desinfectando el criovial con etanol al 70% antes de abrirlo.
5. Abrir con cuidado el vial desinfectado y transferir la suspensión celular a un tubo de centrifuga de 15 ml que contenga 8 ml de medio de cultivo a temperatura ambiente, mezclando suavemente.
6. Centrifugar la mezcla a  $300 \times g$  durante 3 minutos para separar las células y desechar cuidadosamente el sobrenadante que contiene medio de congelación residual.
7. Resuspender suavemente el sedimento celular en 10 ml de medio de cultivo fresco. Para las células adherentes, dividir la suspensión entre dos matraces de cultivo T25; para los cultivos en suspensión, transferir todo el medio a un matraz T25 para promover la interacción y el crecimiento celular efectivos.
8. Siga los protocolos de subcultivo establecidos para el crecimiento y mantenimiento continuos de la línea celular, garantizando resultados experimentales fiables.

### Incubation Atmosphere

$37^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , atmósfera humidificada.

### Flask Coating

Ninguno

### Freezing Procedure

Las líneas celulares crioconservadas se envían en hielo seco en envases validados y aislados con suficiente refrigerante para mantener aproximadamente  $-78^{\circ}\text{C}$  durante el tránsito. A la recepción, inspeccione el envase inmediatamente y transfiera los viales sin demora al almacenamiento adecuado.

### Shipping Conditions

Las líneas celulares crioconservadas se envían en hielo seco en envases validados y aislados con suficiente refrigerante para mantener aproximadamente  $-78^{\circ}\text{C}$  durante el tránsito. A la recepción, inspeccione el envase inmediatamente y transfiera los viales sin demora al almacenamiento adecuado.

## células hCMEC/D3 | 305024

### Storage Conditions

Para la conservación a largo plazo, coloque los viales en nitrógeno líquido en fase vapor a una temperatura aproximada de -150 a -196 °C. El almacenamiento a -80 °C sólo es aceptable como breve paso intermedio antes de la transferencia al nitrógeno líquido.

## Control de calidad / Perfil genético / HLA

### Sterility

La contaminación por micoplasma se excluye utilizando tanto ensayos basados en la PCR como métodos de detección de micoplasma basados en la luminiscencia.

Para garantizar la ausencia de contaminación bacteriana, fúngica o por levaduras, los cultivos celulares se someten a inspecciones visuales diarias.