

hCMEC/D3 rakud | 305024

Üldine teave

Description

HCMEC/D3 rakuliin kujutab endast immortaliseeritud inimese aju mikrovaskulaarse endoteeli rakuliini, mida kasutatakse laialdaselt vere-aju barjääri (BBB) uurimisel. See rakuliin on loodud inimese primaarsete aju mikrovaskulaarsete endoteelirakkude transdutseerimise teel lentiviirusvektoriga, mis ekspresseerib inimese telomeraasi pöördtranskriptaasi (hTERT), mis on oluline ensüüm telomeeri pikkuse säilitamiseks ja seeläbi rakkude pikaealisuse edendamiseks, ilma et raku fenotüüp muutuks. hTERT lisamine aitab neil rakkudel vältida replikatiivset vananemist, mis piirab primaarsete rakkude eluiga, võimaldades püsivat paljunemist kultuuris.

HCMEC/D3 rakud säilitavad primaarsete aju endoteelirakkude peamised füsioloogilised ja morfoloogilised omadused, mis teeb neist väärtusliku mudeli BBB in vitro uuringuteks. Nende hulka kuulub tiheda ühenduskoha valkude, nagu claudin-5, occludin ja zonula occludens-1, ekspressioon, mis on kriitilise tähtsusega barjääri terviklikkuse säilitamiseks. Samuti ekspresseerivad rakud erinevaid aju endoteelile iseloomulikke transportereid ja retseptoreid, mis toetab nende kasutamist ravimite manustamise ja neurovaskulaarsete häiretega seotud uuringutes. HCMEC/D3 võime moodustada tihedat monokihti suure elektritakistusega rõhutab nende sobivust BBB läbilaskvusuuringuteks.

HCMEC/D3 rakke kasutavad teadusuuringud on hõlmanud mitmesuguseid rakendusi, sealhulgas ajupatoloogiate, nagu insult, hulgiskleroos ja vähi metastaaside teke ajus, uurimine. Nende ühilduvus erinevate molekulaarbioloogiliste meetoditega teeb neist ka suurepärase vahendi endoteelirakkude vastuste uurimiseks põletikuliste stiimulitele, nihkestressile ja neurotoksistele ainetele. See rakuliin pakub usaldusväärset ja korratavat platvormi molekulaarsete sündmuste uurimiseks aju endoteeli tasandil, andes väärtuslikke teadmisi neurovaskulaarse tervise ja haiguste keerukusest.

Organism Inimene

Tissue Aju, ajukambris, vere mikroveresooned

Synonyms HCMEC/D3, CMEC/D3, inimese kortikaalsed mikroveresoonte endoteelirakud/D3

Omadused

Age Täiskasvanud

Gender Naised

Morphology Endoteeli

Cell type Endoteeli rakk

Growth properties Kinnipeetav

Regulatiivsed andmed

hCMEC/D3 rakud | 305024

Citation	hCMEC/D3 (Cytioni katalooginumber 305024)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_U985
GMO Status	GMO-S1: See inimese mikrovaskulaarsete endoteelirakkude liin (hCMEC/D3) sisaldab SV40 T-antigeeni või hTERT-d kodeerivaid lentiviiruskonstruktsioone, mis toetavad stabiilset immortaliseerimist. Insert on integreeritud primaarsetesse endoteelirakkudesse. See klassifikatsioon kehtib ainult Saksamaal ja võib mujal erineda.

Biomolekulaarsed andmed

Viruses	Transformant: simian virus 40 (SV40)
----------------	--------------------------------------

Töötlemine

Culture Medium	EGM -2 MV Microvascular Endothelial Cell Growth Medium-2 BulletKit (Lonza, Lonza katalooginumber CC-3202)
Supplements	Täiendage kaasasolevat EBM-2 põhikeskkonda vastavalt tootja soovitusel
Freeze medium	Krüokonserveerimissöötmena kasutame 50% põhikeskkonda + 40% FBS + 10% DMSO ehk CM-1 (Cytioni katalooginumber 800100), mis sisaldab optimeeritud osmoprotektante ja metaboolseid stabilisaatoreid, et parandada taastumist ja vähendada krüoostressi.

hCMEC/D3 rakud | 305024

Thawing and Culturing Cells

1. Veenduge, et vial jääb tarnimisel sügavkülmutatud, sest rakud transporditakse kuiva jääga, et säilitada optimaalne temperatuur transpordi ajal.
2. Pärast kättesaamist säilitage krüoviaal kas kohe temperatuuril alla $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, et tagada rakkude terviklikkuse säilimine, või jätkake sammuga 3, kui on vaja koheselt kultiveerida.
3. Kohese kultiveerimise korral sulatage viali kiiresti, kastes selle $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ veevanni puhta vee ja antimikroobse ainega, segades seda õrnalt 40-60 sekundit, kuni alles jääb väike jääklomp.
4. Tehke kõik järgmised toimingud steriilsetes tingimustes vooluhoodis, desinfitseerides krüoviaal enne avamist 70% etanooliga.
5. Avage desinfitseeritud viali ettevaatlikult ja viige raku suspensioon ettevaatlikult segades 15 ml tsentrifuugitorusse, mis sisaldab 8 ml toatemperatuuril olevat kasvukeskkonda.
6. Rakkude eraldamiseks tsentrifuugige segu $300 \times g$ juures 3 minutit ja visake ülejäänud külmutusvedelikku sisaldav supernatant ettevaatlikult ära.
7. Resuspendeerige rakupellet ettevaatlikult 10 ml värskes kasvukeskkonnas. Adhereerivate rakkude puhul jagage suspensioon kahe T25 kultuurkolvi vahel; suspensioonikultuuride puhul kandke kogu söötme keskkond ühte T25 kolbi, et soodustada rakkude tõhusat koostoimet ja kasvu.
8. Järgige kehtestatud subkultuuriprotokolle rakuliini jätkuvaks kasvuks ja säilitamiseks, tagades usaldusväärsed katsetulemused.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , niisutatud atmosfäär.

Flask Coating

Optimaalse kinnitumise ja elujõulisuse tagamiseks pärast sulatamist soovitame kasutada **kollageeniga kaetud koldeid või plaate**.

Freezing Procedure

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

Shipping Conditions

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

hCMEC/D3 rakud | 305024

**Storage
Conditions**

Pikaajaliseks säilitamiseks asetage viaalid aurufaasis vedela lämmastikuga umbes -150 kuni -196 °C juures. Säilitamine temperatuuril -80 °C on vastuvõetav ainult lühikese vaheetapina enne vedela lämmastikuga üleviimist.

Kvaliteedikontroll / Geneetiline profiil / HLA

Sterility

Mükoplasmakontaminatsioon on välistatud nii PCR-põhiste analüüside kui ka luminesentsil põhinevate mükoplasma tuvastamise meetodite abil.

Bakteriaalse, seene- või pärmsaaste puudumise tagamiseks kontrollitakse rakukultuure iga päev visuaalselt.