

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 pikaajalise 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 neurotoksilistele 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

Disease

Normaalne aju mikrovaskulaarne endoteel (hTERT- ja SV40-immortaliseeritud; vere-aju barjääri mudel; mittetumorigeenne)

Metastatic site

Ei kohaldata (normaalne aju endoteelirakkude liin; ei ole kasvajaaprov)

Applications

vere-aju barjääri (BBB) uurimine; neuropõletik; ravimite jõudmine kesknärvisüsteemi ja läbilaskvus; transendoteliaalne migratsioon; tihedate liideste bioloogia (klaudiin-5, okkludiin, ZO-1); neuroloogiliste haiguste modelleerimine; nihkepinge reaktsioonid; neurotoksilisuse testimine

Synonyms

hCMEC/D3, CMEC/D3, inimese kortikaalsed mikroveresoonte endoteelirakud/D3

Omadused

Age

Täiskasvanud

Gender

Naised

hCMEC/D3 rakud | 305024

Ethnicity Ei ole täpsustatud

Morphology Endoteeli

Cell type Endoteeli rakk

Growth properties Kinnipeetav

Regulatiivsed andmed

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

Dissociation Reagent Accutase või 0,25% trüpsiin-EDTA (lühikest aega; vältida liigset trüpsineerimist)

Doubling time umbes 24–36 tundi

hCMEC/D3 rakud | 305024

Subculturing Eemalda kasvukeskkond, pese $\text{Ca}^{2+}/\text{Mg}^{2+}$ -vaba PBS-ga, lisa Accutase (3–5 minutit 37 °C juures), neutraliseerige täis keskkonnaga, tseentrifuugige 300×g 5 minutit, külvake uuesti tihedusega $1-2 \times 10^4$ rakku/cm² kollageeniga kaetud kolvidesse.

Split ratio 1–3

Seeding density $1-2 \times 10^4$ rakku/cm² (kollageen I-ga kaetud pindadel)

Fluid renewal Iga 1–2 päeva tagant

Freeze medium Krüokonserveerimissöötmena kasutame 50% põhikeskkonda + 40% FBS + 10% DMSO ehk CM-1 (Cytioni katalooginumbriga 800100), mis sisaldab optimeeritud osmoprotektante ja metaboolseid stabilisaatoreid, et parandada taastumist ja vähendada krüoostressi.

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 °C, et tagada rakkude terviklikkuse säilimine, või jätkake sammuga 3, kui on vaja koheselt kultiveerida.
3. Kohese kultiveerimise korral sulatage vial kiiresti, kastes selle 37 °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 vial ettevaatlikult ja viige raku suspensioon ettevaatlikult segades 15 ml tseentrifuugitorusse, mis sisaldab 8 ml toatemperatuuril olevat kasvukeskkonda.
6. Rakkude eraldamiseks tseentrifuugige segu 300 x 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.

hCMEC/D3 rakud | 305024

Incubation Atmosphere 37°C, 5%_{CO2}, niisutatud atmosfäär.

Flask Coating Puudub

Freezing Procedure Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu -78 °C. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige viaalid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

Shipping Conditions Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu -78 °C. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige viaalid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

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.