

Bend.3 Rakud | 305265**Üldine teave****Description**

Bend.3 rakuliin on saadud hiire aju endoteelirakkudest ja seda kasutatakse laialdaselt neurovaskulaarsetes uuringutes. Need rakud on mudeliks vere-aju barjääri (BBB) uurimiseks, mis on kriitiline struktuur, mis reguleerib ainete läbipääsu vereringest aju. Bend.3 rakud on olulised BBB terviklikkust, läbilaskvust ja transpordifunktsioone reguleerivate molekulaar- ja rakumehhanismide uurimisel. Teadlased kasutavad Bend.3 rakke erinevate neuroloogiliste haiguste, näiteks insuldi, Alzheimeri tõve ja hulgiskleroosi patofüsioloogia uurimiseks, kus BBB düsfunktsioon on iseloomulik.

Bend.3 rakkudel on endoteeliomadused, sealhulgas tihedate ühenduste valkude, nagu okludiin, klaudiinid ja zonula occludens-1 (ZO-1), ekspressioon, mis on olulised BBB selektiivse läbilaskvuse säilitamiseks. Nad ekspresseerivad ka selliseid markereid nagu CD31 ja von Willebrandi faktor, mis on endoteelirakkudele iseloomulikud. Bend.3 rakud reageerivad põletikulistele stiimulitele ja oksüdatiivsele stressile, mistõttu sobivad nad BBB häirete ja neuroinflammatsiooni uuringuteks. Lisaks kasutatakse seda rakuliini BBB läbimiseks mõeldud farmakoloogiliste ainete tõhususe ja ohutuse hindamiseks, mis aitab kaasa kesknärvisüsteemi haiguste ravi väljatöötamisele. Bend.3 rakkude kasulikkus neurovaskulaarse üksuse modelleerimisel rõhutab nende tähtsust aju endoteelirakkude bioloogia mõistmise ja neuroterapeutikumide väljatöötamise edendamisel.

Organism

Hiir

Tissue

Aju, ajukoor, ajukoor

Disease

Endotelioom

Synonyms

bEND.3, b.End3, bEnd.3, bEnd3, BEND3, ajust saadud endoteelirakud.3

Omadused**Breed/Subspecies**

BALB/c

Age

6 nädalat

Gender

Täpsustamata

Morphology

Endoteeli

Cell type

Endoteeli rakk

Growth properties

Kinnipeetav

Bend.3 Rakud | 305265**Regulatiivsed andmed**

Citation	Bend.3 (Cytioni katalooginumber 305265)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	10090
CellosaurusAccession	CVCL_0170
GMO Status	GMO-S1: See hiirte endoteelirakuliin (bEnd.3) sisaldab NTKmT retroviirusvektori poolt kodeeritud poliõmaviiruse keskmiist T antigeeni, mis põhjustab transformatsiooni ja suurenenud proliferatsiooni. Konstruktsioon on stabiilselt olemas aju mikrovaskulaarsetes endoteelirakkudes. See klassifikatsioon kehtib ainult Saksamaal ja võib mujal erineda.

Biomolekulaarsed andmed

Antigen expression	ICAM-1 +, VCAM-1 +, MAdCAM-1 +, MAdCAM-1 +
Viruses	Transformant: Murine polyomavirus (tüvi A2) (MPyV) keskmine T antigeen (PyMT)

Töötlemine

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/L glükoosi, w: 4 mM L-glutamiini, w: 3,7 g/L NaHCO ₃ , w: 1,0 mM naatriumpüruvaati (Cytioni artikli number 820300a)
Supplements	Täiendada söötme 10% FBS-ga
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Eemaldage kleepunud rakkudel vana söötme ja peske neid PBS-ga, milles puudub kaltsium ja magneesium. T25 kolbide puhul kasutage 3-5 ml PBS-i ja T75 kolbide puhul 5-10 ml. Seejärel katke rakud täielikult Accutase'iga, kasutades 1-2 ml T25 kolbide puhul ja 2,5 ml T75 kolbide puhul. Laske rakkudel inkubeerida 8-10 minutit toatemperatuuril, et need eralduksid. Pärast inkubeerimist segage rakud ettevaatlikult 10 ml söötmega, et neid resuspenseerida, seejärel tsentrifuugige 3 minutit 300xg juures. Visake supernatant ära, suspenseerige rakud uuesti värskes keskkonnas ja viige need uutesse kolvidesse, mis sisaldavad juba värsket keskkonda.
Freeze medium	Krüs säilitusvedelikusena kasutame täielikku kasvukeskkonda (sh FBS) + 10% DMSO, et tagada piisav elujõulisus pärast sulatamist, või CM-1 (Cytioni katalooginumber 800100), mis sisaldab optimeeritud osmoprotektante ja metaboolseid stabilisaatoreid, et parandada taastumist ja vähendada krüostressi.

Bend.3 Rakud | 305265

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.

Bend.3 Rakud | 305265

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.