

## hCMEC/D3-solut | 305024

## Yleisiä tietoja

## Description

HCMEC/D3-solulinja on kuolematon ihmisen aivojen mikrovaskulaarinen endoteelisolulinja, jota käytetään laajalti veri-aivoesteen (BBB) tutkimuksessa. Tämä solulinja luotiin transduktioimalla primaarisia ihmisen aivojen mikrovaskulaarisia endoteelisoluja lentiviraalivektorilla, joka ilmentää ihmisen telomeraasin käänteistranskriptaasia (hTERT), joka on ratkaisevan tärkeä entsyymi telomeerien pituuden ylläpitämisessä ja siten solujen pitkäikäisyyden edistämässä muuttamatta solujen fenotyyppejä. hTERT:n käyttöönotto auttaa näitä soluja ohittamaan replikaatiivisen senesenssin, joka rajoittaa primaarisolujen elinikää, ja mahdollistaa niiden jatkuvan lisääntymisen viljelyssä.

HCMEC/D3-solut säilyttävät primaaristen aivojen endoteelisolujen keskeiset fysiologiset ja morfologiset ominaisuudet, mikä tekee niistä arvokkaan mallin BBB:n in vitro -tutkimuksiin. Näihin kuuluu muun muassa tiukkojen liitosproteiinien, kuten claudin-5:n, okkludiinin ja zonula occludens-1:n, ilmentyminen, jotka ovat kriittisiä esteen eheyden ylläpitämisen kannalta. Solut ilmentävät myös erilaisia aivojen endoteelille tyypillisiä kuljettajia ja reseptoreita, mikä tukee niiden käyttöä lääkkeiden annosteluun ja neurovaskulaarisiin häiriöihin liittyvissä tutkimuksissa. HCMEC/D3:n kyky muodostaa tiivis monokerros, jolla on korkea sähköinen vastus, korostaa niiden soveltuvuutta BBB:n läpäisevyyttä määrittämiin.

HCMEC/D3-soluja hyödyntävä tutkimus on kattanut laajan valikoiman sovelluksia, mukaan lukien aivopatologioiden, kuten aivohalvauksen, multipeliskleroosin ja syövän etäpesäkkeiden tutkiminen aivoihin. Niiden yhteensopivuus erilaisten molekyylibiologisten tekniikoiden kanssa tekee niistä myös erinomaisen välineen tutkia endoteelisolujen vasteita tulehdusärsykkeille, leikkausstressille ja neurotoksisille aineille. Tämä solulinja tarjoaa vankan, toistettavissa olevan alustan molekulaaristen tapahtumien analysoimiseksi aivojen endoteelitasolla, mikä antaa arvokasta tietoa neurovaskulaarisen terveyden ja sairauksien monimutkaisuudesta.

## Organism

Ihminen

## Tissue

Aivot, ohimolohko, veren mikroverisuoni

## Disease

Normaali aivojen mikrovaskulaarinen endoteeli (hTERT- ja SV40-immortalisoitu; veri-aivoesteen malli; ei-kasvainmuodostava)

## Metastatic site

Ei sovelleta (normaali aivojen endoteelisolulinja; ei kasvainnäyte)

## Applications

Veri-aivoesteen (BBB) tutkimus; neuroinflammaatio; lääkkeiden kulkeutuminen keskushermostoon ja läpäisevyys; transendoteelinen migraatio; tiiviiden liitokohtien biologia (claudin-5, occludin, ZO-1); neurologisten sairauksien mallintaminen; leikkausjännitysreaktiot; neurotoksisuustestaus

## Synonyms

HCMEC/D3, CMEC/D3, ihmisen aivokuoren mikroverisuonten endoteelisolut/D3

## Ominaisuudet

## Age

Aikuiset

## hCMEC/D3-solut | 305024

**Gender** Nainen

**Ethnicity** Ei määritelty

**Morphology** Endoteeli

**Cell type** Endoteelisolu

**Growth properties** Tarttuva

## Säätelytiedot

**Citation** hCMEC/D3 (Cytionin luettelonumero 305024)

**Biosafety level** 1

**NCBI\_TaxID** 9606

**CellosaurusAccession** CVCL\_U985

**GMO Status** GMO-S1: Tämä ihmisen mikrovaskulaarinen endoteelisolulinja (hCMEC/D3) sisältää SV40 T-antigeenia tai hTERT:tä koodaavia lentiviruskonstruktioita, jotka tukevat vakaata kuolemattomuutta. Insertti on integroitu primaarisiin endoteelisoluihin. Tämä luokitus koskee vain Saksaa, ja se voi poiketa muualla.

## Biomolekyyli tiedot

**Viruses** Transformantti: Simian virus 40 (SV40)

## Käsittely

**Culture Medium** EGM -2 MV Microvascular Endothelial Cell Growth Medium-2 BulletKit (Lonza, Lonzan luettelonumero CC-3202)

**Supplements** Täydennä mukana toimitettua EBM-2 Basal Mediumia valmistajan suositusten mukaisesti

**Dissociation Reagent** Accutase tai 0,25-prosenttista trypsiini-EDTA-liuosta (lyhyesti; älä käsittele trypsiinillä liikaa)

**Doubling time** noin 24–36 tuntia

**hCMEC/D3-solut | 305024**

**Subculturing** Poista elatusaine, huuhtele  $\text{Ca}^{2+}/\text{Mg}^{2+}$ :tä sisältämättömällä PBS:llä, lisää Accutase (3–5 min 37 °C:ssa), neutraloi täydellisellä elatusaineella, sentrifugoi 300×g 5 minuuttia, istuta uudelleen tiheydellä  $1-2 \times 10^4$  solua/cm<sup>2</sup> kollageenilla päällystettyihin pulloihin.

**Split ratio** 1–3

**Seeding density**  $1-2 \times 10^4$  solua/cm<sup>2</sup> (kollageeni I:llä päällystetyillä pinnoilla)

**Fluid renewal** 1–2 päivän välein

**Freeze medium** Kryosäilytysmediaa käytämme 50 % perusmediaa + 40 % FBS + 10 % DMSO:ta eli CM-1:tä (Cytionin luettelonumero 800100), joka sisältää optimoituja osmoprotektantteja ja metabolisia stabilisaattoreita, jotka parantavat elpymistä ja vähentävät kryosäilytysstressiä.

**Thawing and Culturing Cells**

1. Varmista, että injektioipullo pysyy syväjäädetytynä toimitettaessa, sillä solut kuljetetaan kuivajäädessä, jotta optimaalinen lämpötila säilyy kuljetuksen aikana.
2. Vastaanotettaessa kryopullo joko säilytetään välittömästi alle -150 °C:n lämpötilassa solujen eheyden säilyttämiseksi tai edetään vaiheeseen 3, jos tarvitaan välitöntä viljelyä.
3. Välitöntä viljelyä varten sulata injektioipullo nopeasti upottamalla se 37 °C:n vesihauteeseen, jossa on puhdasta vettä ja antimikrobista ainetta, ja sekoittamalla sitä varovasti 40-60 sekunnin ajan, kunnes jäädästä on jäljellä pieni jäämöhkäle.
4. Suorita kaikki seuraavat vaiheet steriileissä olosuhteissa virtaushupussa ja desinfioi kryopullo 70-prosenttisellä etanolilla ennen avaamista.
5. Avaa desinfioitu injektioipullo varovasti ja siirrä solususpensio 15 ml:n sentrifugiputkeen, joka sisältää 8 ml huoneenlämpöistä elatusainetta, varovasti sekoittaen.
6. Sentrifugoi seosta 300 x g:n voimakkuudella 3 minuutin ajan solujen erottamiseksi ja hävitä varovasti supernatantti, joka sisältää jäännöspakastusmediumia.
7. Suspendoidaan solupelletti varovasti uudelleen 10 ml:aan tuoretta elatusainetta. Jos solut ovat tarttuvia, jaa suspensio kahden T25-kolvin kesken; jos kyseessä ovat suspensioviljelmät, siirrä kaikki väliaine yhteen T25-kolviin solujen tehokkaan vuorovaikutuksen ja kasvun edistämiseksi.
8. Noudata vakiintuneita aliviljelyprotokollia solulinjan jatkuvan kasvun ja ylläpidon varmistamiseksi ja luotettavien kokeellisten tulosten varmistamiseksi.

## hCMEC/D3-solut | 305024

**Incubation Atmosphere** 37 °C, 5 %<sub>CO2</sub>, kostutettu ilmakehä.

**Flask Coating** Ei mitään

**Freezing Procedure** Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäässä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

**Shipping Conditions** Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäässä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

**Storage Conditions** Pitkäaikaissäilytystä varten injektiopullot asetetaan höyryfaasissa olevaan nestemäiseen tyypeen noin -150 - -196 °C:een. Säilytys -80 °C:ssa on hyväksyttävää vain lyhyenä välivaiheena ennen siirtoa nestemäiseen tyypeen.

## Laadunvalvonta / Geneettinen profiili / HLA

**Sterility** Mykoplasmakontaminaatio suljetaan pois sekä PCR-pohjaisilla määrittelyillä että luminesenssiin perustuvilla mykoplasman osoitusmenetelmillä.

Bakteeri-, sieni- tai hiivakontaminaation välttämiseksi soluviljelmät tarkastetaan päivittäin silmämääräisesti.