

cellules hCMEC/D3 | 305024

Informations générales

Description

La lignée cellulaire HCMEC/D3 représente une lignée cellulaire endothéliale microvasculaire cérébrale humaine immortalisée, largement utilisée dans l'étude de la barrière hémato-encéphalique (BHE). Cette lignée cellulaire a été générée par transduction de cellules endothéliales microvasculaires cérébrales humaines primaires avec un vecteur lentiviral exprimant la transcriptase inverse de la télomérase humaine (hTERT), une enzyme cruciale pour le maintien de la longueur des télomères et donc pour la promotion de la longévité cellulaire sans transformer le phénotype de la cellule. L'introduction de la hTERT aide ces cellules à contourner la sénescence répliquative qui limite la durée de vie des cellules primaires, ce qui permet une propagation soutenue en culture.

Les cellules HCMEC/D3 conservent les principales caractéristiques physiologiques et morphologiques des cellules endothéliales cérébrales primaires, ce qui en fait un modèle précieux pour les études in vitro de la BHE. Elles expriment notamment des protéines de jonction serrée telles que la claudine-5, l'occludine et la zonula occludens-1, qui sont essentielles au maintien de l'intégrité de la barrière. Les cellules expriment également divers transporteurs et récepteurs typiques de l'endothélium cérébral, ce qui justifie leur utilisation dans des études liées à l'administration de médicaments et aux troubles neurovasculaires. La capacité des HCMEC/D3 à former une monocouche serrée avec une résistance électrique élevée souligne leur pertinence pour les essais de perméabilité de la BHE.

La recherche sur les cellules HCMEC/D3 a couvert un large éventail d'applications, y compris l'étude des pathologies cérébrales telles que les accidents vasculaires cérébraux, la sclérose en plaques et les métastases du cancer dans le cerveau. Leur compatibilité avec diverses techniques de biologie moléculaire en fait également un excellent outil pour étudier les réponses des cellules endothéliales aux stimuli inflammatoires, au stress de cisaillement et aux substances neurotoxiques. Cette lignée cellulaire constitue une plateforme robuste et reproductible pour disséquer les événements moléculaires au niveau de l'endothélium cérébral, ce qui permet de mieux comprendre les complexités de la santé et de la maladie neurovasculaires.

Organism Humain

Tissue Cerveau, lobe temporal, microvaisseaux sanguins

Disease Endothélium microvasculaire cérébral normal (immortalisé par hTERT et SV40 ; modèle de barrière hémato-encéphalique ; non tumorigène)

Metastatic site Sans objet (lignée cellulaire endothéliale cérébrale normale ; il ne s'agit pas d'un échantillon tumoral)

Applications Recherche sur la barrière hémato-encéphalique (BHE) ; neuroinflammation ; administration de médicaments au niveau du SNC et perméabilité ; migration transendothéliale ; biologie des jonctions serrées (claudine-5, occludine, ZO-1) ; modélisation des maladies neurologiques ; réponses aux contraintes de cisaillement ; essais de neurotoxicité

Synonyms HCMEC/D3, CMEC/D3, cellules endothéliales des microvaisseaux corticaux humains/D3

Caractéristiques

cellules hCMEC/D3 | 305024

Age	Adulte
Gender	Femme
Ethnicity	Non spécifié
Morphology	Endothéliales
Cell type	Cellule endothéliale
Growth properties	Adhérent

Données réglementaires

Citation	hCMEC/D3 (numéro de catalogue 305024 de Cytion)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_U985
GMO Status	OGM-S1 : Cette lignée de cellules endothéliales microvasculaires humaines (hCMEC/D3) contient des constructions lentivirales codant pour l'antigène SV40 T ou l'hTERT, ce qui permet une immortalisation stable. L'insert est intégré dans les cellules endothéliales primaires. Cette classification ne s'applique qu'à l'Allemagne et peut différer dans d'autres pays.

Données biomoléculaires

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

Manipulation

Culture Medium	EGM -2 MV Microvascular Endothelial Cell Growth Medium-2 BulletKit (de Lonza, numéro de catalogue Lonza CC-3202)
Supplements	Compléter le milieu de base EBM-2 fourni selon les recommandations du fabricant
Dissociation Reagent	Accutase ou trypsine-EDTA à 0,25 % (traitement bref ; éviter une trypsinisation excessive)

cellules hCMEC/D3 | 305024

Doubling time environ 24 à 36 heures

Subculturing Retirer le milieu, laver avec du PBS sans $\text{Ca}^{2+}/\text{Mg}^{2+}$, ajouter de l'Accutase (3 à 5 min à 37 °C), neutraliser avec du milieu complet, centrifuger à $300 \times g$ pendant 5 min, puis réensemencer à une densité de $1 \text{ à } 2 \times 10^4$ cellules/cm² dans des flacons recouverts de collagène.

Split ratio 1 à 3

Seeding density $1 \text{ à } 2 \times 10^4$ cellules/cm² (sur des surfaces recouvertes de collagène I)

Fluid renewal Tous les 1 à 2 jours

Freeze medium Comme milieu de cryoconservation, nous utilisons 50 % de milieu basal + 40 % de FBS + 10 % de DMSO, ou CM-1 (numéro de catalogue 800100 de Cytion), qui contient des osmoprotectants et des stabilisateurs métaboliques optimisés pour améliorer la récupération et réduire le stress induit par la cryoconservation.

cellules hCMEC/D3 | 305024

Thawing and Culturing Cells

1. Confirmer que le flacon est toujours congelé à la livraison, car les cellules sont expédiées sur de la glace sèche pour maintenir des températures optimales pendant le transport.
2. Dès réception, soit conserver immédiatement le cryovial à des températures inférieures à -150°C pour assurer la préservation de l'intégrité cellulaire, soit passer à l'étape 3 si une mise en culture immédiate est nécessaire.
3. Pour une mise en culture immédiate, décongeler rapidement le flacon en l'immergeant dans un bain-marie à 37°C avec de l'eau propre et un agent antimicrobien, en l'agitant doucement pendant 40 à 60 secondes jusqu'à ce qu'il ne reste qu'un petit amas de glace.
4. Effectuer toutes les étapes suivantes dans des conditions stériles sous une hotte à flux, en désinfectant le cryovial avec de l'éthanol à 70 % avant de l'ouvrir.
5. Ouvrir soigneusement le flacon désinfecté et transférer la suspension cellulaire dans un tube à centrifuger de 15 ml contenant 8 ml de milieu de culture à température ambiante, en mélangeant doucement.
6. Centrifuger le mélange à 300 x g pendant 3 minutes pour séparer les cellules et jeter soigneusement le surnageant contenant le milieu de congélation résiduel.
7. Remettre doucement en suspension le culot cellulaire dans 10 ml de milieu de culture frais. Pour les cellules adhérentes, répartir la suspension entre deux flacons de culture T25 ; pour les cultures en suspension, transférer tout le milieu dans un seul flacon T25 afin de favoriser une interaction et une croissance efficaces des cellules.
8. Respecter les protocoles de sous-culture établis pour une croissance et un entretien continu de la lignée cellulaire, garantissant ainsi des résultats expérimentaux fiables.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO₂, atmosphère humidifiée.

Flask Coating

Aucun

Freezing Procedure

Les lignées cellulaires cryoconservées sont expédiées sur glace sèche dans des emballages isolés et validés, avec suffisamment de réfrigérant pour maintenir une température d'environ -78 °C tout au long du transport. À la réception, inspecter immédiatement le conteneur et transférer sans délai les flacons dans un lieu de stockage approprié.

cellules hCMEC/D3 | 305024

**Shipping
Conditions**

Les lignées cellulaires cryoconservées sont expédiées sur glace sèche dans des emballages isolés et validés, avec suffisamment de réfrigérant pour maintenir une température d'environ -78 °C tout au long du transport. À la réception, inspecter immédiatement le conteneur et transférer sans délai les flacons dans un lieu de stockage approprié.

**Storage
Conditions**

Pour une conservation à long terme, placer les flacons dans de l'azote liquide en phase vapeur à une température comprise entre -150 et -196 °C environ. Le stockage à -80 °C n'est acceptable qu'en tant qu'étape intermédiaire de courte durée avant le transfert dans l'azote liquide.

Contrôle de qualité / Profil génétique / HLA

Sterility

La contamination par les mycoplasmes est exclue à l'aide de tests basés sur la PCR et de méthodes de détection des mycoplasmes basées sur la luminescence.

Pour s'assurer de l'absence de contamination bactérienne, fongique ou levurienne, les cultures cellulaires font l'objet d'inspections visuelles quotidiennes.