

## 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

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

## Caractéristiques

**Age** Adulte

**Gender** Femme

**Morphology** Endothéliales

**Cell type** Cellule endothéliale

## cellules hCMEC/D3 | 305024

**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

**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 continus de la lignée cellulaire, garantissant ainsi des résultats expérimentaux fiables.

### Incubation Atmosphere

37°C, 5%<sub>CO2</sub>, atmosphère humidifiée.

### Flask Coating

Pour une fixation et une viabilité optimales après décongélation, nous recommandons d'utiliser des **flacons ou des plaques recouverts de collagène**.

### 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.