

hCMEC/D3 sejtek | 305024

Általános információk

Description

A HCMEC/D3 sejtvonal egy immortalizált humán agyi mikrovaszkuláris endotél sejtvonal, amelyet széles körben használnak a vér-agy gát (BBB) tanulmányozásában. Ezt a sejtvonalat primer humán agyi mikrovaszkuláris endotélsejtek transzdukciójával hozták létre, olyan lentivirális vektorral, amely humán telomeráz reverz transzkriptázt (hTERT) expresszál, amely a telomer hosszának fenntartásában kulcsfontosságú enzim, és ezáltal elősegíti a sejtek hosszú élettartamát a sejtfenotípus átalakítása nélkül. A hTERT bevezetése segít ezeknek a sejteknek abban, hogy megkerüljék a replikatív szenescenciát, amely korlátozza az elsődleges sejtek élettartamát, lehetővé téve a tartós szaporodást a kultúrában.

A HCMEC/D3 sejtek megőrzik a primer agyi endotélsejtek kulcsfontosságú fiziológiai és morfológiai jellemzőit, így értékes modellként szolgálnak a BBB in vitro vizsgálatához. Ezek közé tartozik a szoros kötés fehérjéinek, például a claudin-5, az occludin és a zonula occludens-1 expressziója, amelyek kritikusak a barrier integritásának fenntartásában. A sejtek az agyi endothelre jellemző különböző transzportereket és receptorokat is expresszálnak, ami alátámasztja felhasználásukat a gyógyszeradagolással és a neurovaszkuláris rendellenességekkel kapcsolatos vizsgálatokban. A HCMEC/D3 azon képessége, hogy magas elektromos ellenállással rendelkező, szoros monoréteget képezzen, aláhúzza alkalmasságukat a BBB permeabilitási vizsgálatokra.

A HCMEC/D3 sejtek felhasználásával végzett kutatások az alkalmazások széles körét fedik le, beleértve az olyan agyi patológiák vizsgálatát, mint a stroke, a szklerózis multiplex és a rák agyi metasztázisának vizsgálata. A különböző molekuláris biológiai technikákkal való kompatibilitásuk miatt kiváló eszköznek bizonyulnak a gyulladásos ingerekre, a nyírési stresszre és a neurotoxikus anyagokra adott endotélsejtválaszok vizsgálatára is. Ez a sejtvonal robusztus, reprodukálható platformot biztosít az agyi endotél szintjén zajló molekuláris események boncolásához, értékes betekintést nyújtva a neurovaszkuláris egészség és betegség összetettségébe.

Organism Emberi

Tissue Agy, halántéklebény, vérmikroér

Synonyms HCMEC/D3, CMEC/D3, humán kortikális mikroveszelek endotélsejtjei/D3

Jellemzők

Age Felnőtt

Gender Női

Morphology Endothelialis

Cell type Endothelsejt

hCMEC/D3 sejtek | 305024

Growth properties Adherent

Szabályozási adatok

Citation hCMEC/D3 (Cytion katalógusszám: 305024)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_U985

GMO Status GMO-S1: Ez a humán mikrovaszkuláris endotélsejtvonal (hCMEC/D3) SV40 T-Antigént vagy hTERT-t kódoló lentivirális konstrukciókat tartalmaz, amelyek támogatják a stabil immortalizációt. Az inszert primer endotélsejtekbe integrálódik. Ez a besorolás csak Németországban érvényes, máshol ettől eltérhet.

Biomolekuláris adatok

Viruses Transzformáns: Simian virus 40 (SV40)

A kezelése

Culture Medium EGM -2 MV Microvascular Endothelial Cell Growth Medium-2 BulletKit (a Lonzától, Lonza katalógusszám CC-3202)

Supplements A gyártó által ajánlott módon egészítse ki a mellékelt EBM-2 bázismediumot

Freeze medium A kriokonzerváláshoz 50%-os alapközeget + 40% FBS + 10% DMSO-t vagy CM-1-et (Cytion katalógusszám: 800100) használunk, amely optimalizált ozmoprotektánsokat és metabolikus stabilizátorokat tartalmaz a regeneráció fokozása és a krioindukált stressz csökkentése érdekében.

hCMEC/D3 sejtek | 305024**Thawing and
Culturing Cells**

1. Ellenőrizze, hogy az injekciós üveg a szállításkor mélyhűtött marad-e, mivel a sejteket szárazjégen szállítják, hogy a szállítás során az optimális hőmérsékletet fenntartsák.
2. Átvételt követően vagy azonnal tárolja a krioampullát -150 °C alatti hőmérsékleten a sejtek integritásának megőrzése érdekében, vagy folytassa a 3. lépéssel, ha azonnali tenyésztésre van szükség.
3. Azonnali tenyésztés esetén gyorsan fel kell olvasztani az injekciós üveget úgy, hogy tiszta vízzel és antimikrobiális szerrel ellátott 37 °C -os vízfürdőbe merítjük, és 40-60 másodpercig óvatosan kevergetjük, amíg egy kis jégcsomó nem marad.
4. Az összes további lépést steril körülmények között, áramlásos elszívóban végezzük el, és nyitás előtt fertőtlenítsük a kriofülkét 70%-os etanollal.
5. Óvatosan nyissa fel a fertőtlenített fiolát, és a sejtuszpenziót óvatosan összekeverve helyezze át egy 15 ml-es centrifugacsőbe, amely 8 ml szobahőmérsékletű táptalajt tartalmaz.
6. Centrifugáljuk az elegyet $300 \times g$ -n 3 percig a sejtek szétválasztásához, és óvatosan dobjuk el a maradék fagyasztóközeget tartalmazó felülúszót.
7. Óvatosan szuszpendáljuk újra a sejt pelletet 10 ml friss táptalajban. Adhezív sejtek esetében ossza a szuszpenziót két T25-ös tenyésztőlombik között; szuszpenziós kultúrák esetében az összes tápfolyadékot tegye át egy T25-ös lombikba a hatékony sejtkölcsönhatás és növekedés elősegítése érdekében.
8. A sejt vonal folyamatos növekedése és fenntartása érdekében tartsa be a megállapított szubkultúra protokollokat, biztosítva a megbízható kísérleti eredményeket.

**Incubation
Atmosphere**

37 °C , 5% CO_2 , párasított légkör.

Flask Coating

Nincs

**Freezing
Procedure**

A kriokonzervált sejt vonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül -78 °C -on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

**Shipping
Conditions**

A kriokonzervált sejt vonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül -78 °C -on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

hCMEC/D3 sejtek | 305024

Storage Conditions

Hosszú távú tartósítás céljából helyezze az üvegeket gőzfázisú folyékony nitrogénbe, körülbelül -150 és -196 °C közötti hőmérsékleten. A -80 °C-on történő tárolás csak rövid átmeneti lépésként fogadható el a folyékony nitrogénbe való átvitel előtt.

Minőségellenőrzés / Genetikai profil / HLA

Sterility

A mikoplazma-szennyeződést mind a PCR-alapú vizsgálatokkal, mind a lumineszcencia-alapú mikoplazma-kimutatói módszerekkel kizárják.

A bakteriális, gombás vagy élesztőgombás szennyeződés elkerülése érdekében a sejt kultúrákat napi vizuális ellenőrzésnek vetik alá.