

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 monoreteget 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 nyírási 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

Disease

Normális agyi mikrovaszkuláris endotélium (hTERT- és SV40-immortalizált; vér-agy gát modell; nem tumorigenikus)

Metastatic site

Nem alkalmazható (normál agyi endoteliális sejtvonal; nem daganati minta)

Applications

A vér-agy gát (BBB) kutatása; neuroinflammáció; gyógyszerek központi idegrendszerbe jutása és permeabilitása; transzendoteliális migráció; a szoros kapcsolódások biológiája (claudin-5, occludin, ZO-1); neurológiai betegségek modellezése; nyírófeszültségre adott válaszok; neurotoxicitási vizsgálatok

Synonyms

hCMEC/D3, CMEC/D3, humán kortikális mikroveszelek endotélsejtjei/D3

Jellemzők

Age

Felnőtt

hCMEC/D3 sejtek | 305024

Gender	Női
Ethnicity	Nincs megadva
Morphology	Endothelialis
Cell type	Endothelsejt
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 integrálódnak. 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
Dissociation Reagent	Accutase vagy 0,25%-os tripszin-EDTA (rövid ideig; ne hagyja túl sokáig a tripszinben)
Doubling time	kb. 24–36 óra

hCMEC/D3 sejtek | 305024

Subculturing A táptalajt eltávolítjuk, $\text{Ca}^{2+}/\text{Mg}^{2+}$ -mentes PBS-sel mossuk, Accutase-t adunk hozzá (3–5 percig 37 °C-on), semlegesítjük teljes táptalajjal, centrifugáljuk 300×g-vel 5 percig, majd $1-2 \times 10^4$ sejt/cm² sűrűséggel ültessük át kollagénnel bevont lombikokba.

Split ratio 1–3

Seeding density $1-2 \times 10^4$ sejt/cm² (I-típusú kollagénnel bevont felületeken)

Fluid renewal 1–2 naponta

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.

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 krioüklét 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 x 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 sejt kölcsönhatás és növekedés elősegítése érdekében.
8. A sejtvonal folyamatos növekedése és fenntartása érdekében tartsa be a megállapított szubkultúra protokollokat, biztosítva a megbízható kísérleti eredményeket.

hCMEC/D3 sejtek | 305024

Incubation Atmosphere 37°C, 5%_{CO2}, 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.

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-kimutatási módszerekkel kizárják.

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