

Bend.3 Cellák | 305265**Általános információk****Description**

A Bend.3 sejtvonal egér agyi endotélsejtekből származik, és széles körben használják a neurovaszkuláris kutatásokban. Ezek a sejtek modellként szolgálnak a vér-agy gát (BBB) tanulmányozásához, amely kritikus struktúra szabályozza az anyagok átjutását a véráramból az agyba. A Bend.3 sejtek fontos szerepet játszanak a BBB integritását, permeabilitását és a transzportfunkciókat szabályozó molekuláris és sejtmechanizmusok feltárásában. A kutatók a Bend.3 sejteket különböző neurológiai betegségek, például a stroke, az Alzheimer-kór és a szklerózis multiplex patofiziológiájának vizsgálatára használják, ahol a BBB diszfunkciója jellemző.

A Bend.3 sejtek endothelialis jellegzetességeket mutatnak, beleértve az olyan szoros kötőfehérjéket, mint az occludin, a claudinok és a zonula occludens-1 (ZO-1) expresszióját, amelyek elengedhetetlenek a BBB szelektív átteresztőképességének fenntartásához. Olyan markereket is kifejeznek, mint a CD31 és a von Willebrand-faktor, amelyek az endotélsejtekre jellemzőek. A Bend.3 sejtek reagálnak a gyulladásos ingerekre és az oxidatív stresszre, így alkalmasak a BBB zavarainak és a neuroinflammációnak a vizsgálatára. Ezenkívül ezt a sejtvonalat a BBB-n áthatolni szándékozó farmakológiai szerek hatékonyságának és biztonságosságának értékelésére használják, segítve ezzel a központi idegrendszeri rendellenességek kezelésének fejlesztését. A Bend.3 sejtek hasznossága a neurovaszkuláris egység modellezésében aláhúzza fontosságukat az agyi endotélsejtek biológiájának megértésében és a neuroterápiás szerek kifejlesztésében.

Organism

Egér

Tissue

Agy, agykéreg

Disease

Endothelioma

Synonyms

bEND.3, b.End3, bEnd.3, bEnd3, BEND3, agyi eredetű endotélsejtek.3

Jellemzők**Breed/Subspecies**

BALB/c

Age

6 hét

Gender

Meghatározatlan

Morphology

Endothelialis

Cell type

Endothelsejt

Growth properties

Adherent

Bend.3 Cellák | 305265**Szabályozási adatok**

Citation	Bend.3 (Cytion katalógusszám: 305265)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	10090
CellosaurusAccession	CVCL_0170
GMO Status	GMO-S1: Ez az egér endotélsejtvonal (bEnd.3) az NTKmT retrovírus vektor által kódolt poliomavírus középső T antigént tartalmaz, amely transzformációt és fokozott proliferációt eredményez. A konstrukció stabilan jelen van az agyi mikrovaskuláris endotélsejtekben. Ez a besorolás csak Németországban érvényes, és máshol eltérhet.

Biomolekuláris adatok

Antigen expression	ICAM-1 +, VCAM-1 +, MAdCAM-1 +, MAdCAM-1 +
Viruses	Transzformáns: (A2 törzs) (MPyV) középső T antigén (PyMT)

A kezelése

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/L glükóz, w: 4 mM L-Glutamin, w: 3,7 g/L NaHCO ₃ , w: 1,0 mM nátrium-piruvát (Cytion cikkszám 820300a)
Supplements	A táptalajt egészítsük ki 10% FBS-szel
Dissociation Reagent	Accutase

Subculturing Távolítsa el a régi táptalajt a megtapadt sejtekről, és mossa őket kalcium- és magnéziummentes PBS-szel. T25-ös lombikokhoz 3-5 ml PBS-t, T75-ös lombikokhoz pedig 5-10 ml-t használjunk. Ezután fedjük be a sejteket teljesen Accutase-zal, T25 lombikok esetében 1-2 ml-t, T75 lombikok esetében 2,5 ml-t használva. A sejteket 8-10 percig hagyjuk szobahőmérsékleten inkubálni, hogy leváljanak. Az inkubálás után óvatosan keverjük össze a sejteket 10 ml tápfolyadékkal, hogy reszuszpendáljuk őket, majd centrifugáljuk 300xg-nél 3 percig. Dobja el a felülúszót, szuszpendálja újra a sejteket friss tápfolyadékban, és helyezze át őket új lombikokba, amelyek már friss tápfolyadékot tartalmaznak.

Bend.3 Cellák | 305265

Freeze medium

Krioprezerváló táptalajként teljes növekedési táptalajt (beleértve az FBS-t) + 10% DMSO-t használunk a megfelelő kiolvasztás utáni életképesség érdekében, vagy CM-1-et (Cytion katalógusszám: 800100), amely optimalizált ozmoprotektánsokat és metabolikus stabilizátorokat tartalmaz a regenerálódás fokozása és a krio-indukált 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 $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ 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 $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ -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 krioümlékét 70%-os etanollal.
5. Óvatosan nyissa fel a fertőtlenített fiolát, és a sejtszuszpenziót 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 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.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , párasított légkör.

Flask Coating

A felolvasztás utáni optimális kötődés és életképesség érdekében **kollagénnel bevont lombikok vagy lemezek** használatát javasoljuk.

Bend.3 Cellák | 305265

Freezing Procedure

A kriokonzervált sejtvonalatokat 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 sejtvonalatokat 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.