

Informasi umum

Description

Garis sel HCMEC/D3 merupakan garis sel endotel mikrovaskular otak manusia yang diawetkan, yang digunakan secara luas dalam studi sawar darah otak (BBB). Garis sel ini dihasilkan melalui transduksi sel endotel mikrovaskular otak manusia primer dengan vektor lentiviral yang mengekspresikan human telomerase reverse transcriptase (hTERT), enzim penting untuk mempertahankan panjang telomer dan dengan demikian meningkatkan umur sel tanpa mengubah fenotipe sel. Pengenalan hTERT membantu sel-sel ini untuk melewati penuaan replikasi yang membatasi umur sel primer, sehingga memungkinkan perbanyakan yang berkelanjutan dalam kultur.

Sel HCMEC/D3 mempertahankan karakteristik fisiologis dan morfologis utama dari sel endotel otak primer, menjadikannya model yang berharga untuk studi in vitro BBB. Ini termasuk ekspresi protein persimpangan yang ketat seperti claudin-5, occludin, dan zonula occludens-1, yang sangat penting untuk menjaga integritas penghalang. Sel-sel ini juga mengekspresikan berbagai transporter dan reseptor yang khas pada endotel serebral, mendukung penggunaannya dalam penelitian yang berkaitan dengan penghantaran obat dan gangguan neurovaskular. Kemampuan HCMEC/D3 untuk membentuk monolayer yang rapat dengan hambatan listrik yang tinggi menggarisbawahi kesesuaiannya untuk uji permeabilitas BBB.

Penelitian yang menggunakan sel HCMEC/D3 telah mencakup berbagai aplikasi, termasuk investigasi patologi otak seperti stroke, multiple sclerosis, dan metastasis kanker ke otak. Kompatibilitasnya dengan berbagai teknik biologi molekuler juga menjadikannya alat yang sangat baik untuk mempelajari respons sel endotel terhadap rangsangan inflamasi, tegangan geser, dan zat neurotoksik. Garis sel ini menyediakan platform yang kuat dan dapat direproduksi untuk membedah peristiwa molekuler pada tingkat endotel otak, memberikan kontribusi wawasan yang berharga ke dalam kompleksitas kesehatan dan penyakit neurovaskular.

Organism

Manusia

Tissue

Otak, lobus temporal, pembuluh darah mikro

Disease

Endotel mikrovaskular serebral normal (diimortalkan dengan hTERT dan SV40; model sawar darah-otak; tidak bersifat tumorigenik)

Metastatic site

Tidak berlaku (garis sel endotel otak normal; bukan sampel tumor)

Applications

Penelitian tentang sawar darah-otak (BBB); peradangan saraf; pengiriman obat ke SSP dan permeabilitas; migrasi transendotelial; biologi sambungan rapat (claudin-5, occludin, ZO-1); pemodelan penyakit saraf; respons terhadap tegangan geser; pengujian neurotoksisitas

Synonyms

HCMEC/D3, CMEC/D3, Sel Endotel Mikrokortikal Kortikal manusia/D3

Karakteristik

Age

Dewasa

sel hCMEC / D3 | 305024

Gender Perempuan

Ethnicity Tidak ditentukan

Morphology Endotel

Cell type Sel endotel

Growth properties Patuh

Data Peraturan

Citation hCMEC/D3 (nomor katalog Cytion 305024)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_U985

GMO Status GMO-S1: Garis sel endotel mikrovaskular manusia (hCMEC/D3) ini mengandung konstruk lentiviral yang mengkode SV40 T-Antigen atau hTERT, yang mendukung pengawetan yang stabil. Sisipan diintegrasikan ke dalam sel endotel primer. Klasifikasi ini hanya berlaku di Jerman dan mungkin berbeda di tempat lain.

Data Biomolekuler

Viruses Transforman: Virus Simian 40 (SV40)

Penanganan

Culture Medium EGM -2 MV Media Pertumbuhan Sel Endotel Mikrovaskular-2 BulletKit (dari Lonza, nomor katalog Lonza CC-3202)

Supplements Tambahkan Media Basal EBM-2 yang disediakan seperti yang direkomendasikan oleh produsen

Dissociation Reagent Accutase atau Trypsin-EDTA 0,25% (singkat; jangan sampai terjadi trypsinisasi berlebihan)

Doubling time sekitar 24 hingga 36 jam

sel hCMEC / D3 | 305024

Subculturing Buang medium, cuci dengan PBS tanpa $\text{Ca}^{2+}/\text{Mg}^{2+}$, tambahkan Accutase (3–5 menit pada 37°C), netralkan dengan media lengkap, sentrifugasi pada 300×g selama 5 menit, tanam kembali dengan kepadatan $1-2 \times 10^4$ sel/cm² pada labu yang dilapisi kolagen.

Split ratio 1 sampai 3

Seeding density 1 hingga 2×10^4 sel/cm² (pada permukaan yang dilapisi kolagen I)

Fluid renewal Setiap 1 hingga 2 hari

Freeze medium Sebagai media kriopreservasi, kami menggunakan 50% media basal + 40% FBS + 10% DMSO, atau CM-1 (nomor katalog Cytion 800100), yang mencakup osmoprotektan yang dioptimalkan dan penstabil metabolisme untuk meningkatkan pemulihan dan mengurangi stres yang diinduksi kriopreservasi.

Thawing and Culturing Cells

1. Pastikan botol tetap dalam keadaan beku pada saat pengiriman, karena sel dikirim dengan es kering untuk mempertahankan suhu optimal selama perjalanan.
2. Setelah diterima, segera simpan cryovial pada suhu di bawah -150°C untuk memastikan pelestarian integritas sel, atau lanjutkan ke langkah 3 jika kultur segera diperlukan.
3. Untuk kultur segera, segera cairkan botol dengan merendamnya dalam penangas air bersuhu 37°C dengan air bersih dan agen antimikroba, aduk perlahan selama 40-60 detik hingga gumpalan es kecil tetap ada.
4. Lakukan semua langkah selanjutnya dalam kondisi steril di dalam tudung alir, desinfektan kriovial dengan etanol 70% sebelum dibuka.
5. Buka botol yang telah didesinfeksi dengan hati-hati dan pindahkan suspensi sel ke dalam tabung sentrifugasi 15 ml yang berisi 8 ml media kultur suhu kamar, aduk perlahan.
6. Sentrifus campuran pada 300 x g selama 3 menit untuk memisahkan sel dan dengan hati-hati membuang supernatan yang mengandung sisa media pembekuan.
7. Resuspensi pelet sel dengan hati-hati dalam 10 ml medium kultur segar. Untuk sel yang melekat, bagi suspensi di antara dua labu kultur T25; untuk kultur suspensi, pindahkan semua media ke dalam satu labu T25 untuk mendorong interaksi dan pertumbuhan sel yang efektif.
8. Patuhi protokol subkultur yang telah ditetapkan untuk pertumbuhan dan pemeliharaan garis sel yang berkelanjutan, memastikan hasil eksperimental yang andal.

sel hCMEC / D3 | 305024

Incubation Atmosphere 37°C, 5% CO_2 , atmosfer yang dilembabkan.

Flask Coating Tidak ada

Freezing Procedure Lini sel kriopreservasi dikirim di atas es kering dalam kemasan terisolasi yang divalidasi dengan refrigeran yang cukup untuk mempertahankan suhu sekitar -78 ° C selama perjalanan. Setelah diterima, segera periksa wadah dan pindahkan botol tanpa penundaan ke tempat penyimpanan yang sesuai.

Shipping Conditions Lini sel kriopreservasi dikirim di atas es kering dalam kemasan terisolasi yang divalidasi dengan refrigeran yang cukup untuk mempertahankan suhu sekitar -78 ° C selama perjalanan. Setelah diterima, segera periksa wadah dan pindahkan botol tanpa penundaan ke tempat penyimpanan yang sesuai.

Storage Conditions Untuk pengawetan jangka panjang, tempatkan botol dalam nitrogen cair fase uap pada suhu sekitar -150 hingga -196 °C. Penyimpanan pada suhu -80 °C hanya dapat diterima sebagai langkah sementara sebelum dipindahkan ke nitrogen cair.

Kontrol kualitas / Profil genetik / HLA

Sterility Kontaminasi mikoplasma disingkirkan dengan menggunakan tes berbasis PCR dan metode deteksi mikoplasma berbasis pendaran.
Untuk memastikan tidak ada kontaminasi bakteri, jamur, atau ragi, kultur sel menjalani inspeksi visual setiap hari.