

cellule hCMEC/D3 | 305024

Informazioni generali

Description

La linea cellulare HCMEC/D3 rappresenta una linea immortale di cellule endoteliali microvascolari cerebrali umane, ampiamente utilizzata nello studio della barriera emato-encefalica (BBB). Questa linea cellulare è stata generata attraverso la trasduzione di cellule endoteliali microvascolari cerebrali umane primarie con un vettore lentivirale che esprime la trascrittasi inversa della telomerasi umana (hTERT), un enzima cruciale per il mantenimento della lunghezza dei telomeri e quindi per promuovere la longevità cellulare senza trasformare il fenotipo delle cellule. L'introduzione di hTERT aiuta queste cellule a superare la senescenza replicativa che limita la durata di vita delle cellule primarie, consentendo una propagazione prolungata in coltura.

Le cellule HCMEC/D3 mantengono le principali caratteristiche fisiologiche e morfologiche delle cellule endoteliali cerebrali primarie, che le rendono un modello prezioso per gli studi in vitro sulla BBB. Tra queste, l'espressione di proteine della giunzione stretta come la claudina-5, l'occludina e la zonula occludens-1, fondamentali per mantenere l'integrità della barriera. Le cellule esprimono anche diversi trasportatori e recettori tipici dell'endotelio cerebrale, a sostegno del loro utilizzo in studi relativi alla somministrazione di farmaci e ai disturbi neurovascolari. La capacità delle HCMEC/D3 di formare un monostrato stretto con un'elevata resistenza elettrica sottolinea la loro idoneità per i saggi di permeabilità della BBB.

La ricerca che utilizza le cellule HCMEC/D3 ha coperto un'ampia gamma di applicazioni, tra cui lo studio di patologie cerebrali come l'ictus, la sclerosi multipla e le metastasi del cancro al cervello. La loro compatibilità con varie tecniche di biologia molecolare le rende inoltre uno strumento eccellente per studiare le risposte delle cellule endoteliali agli stimoli infiammatori, allo stress da taglio e alle sostanze neurotossiche. Questa linea cellulare fornisce una piattaforma robusta e riproducibile per la dissezione degli eventi molecolari a livello dell'endotelio cerebrale, contribuendo a fornire preziose indicazioni sulla complessità della salute e della malattia neurovascolare.

Organism

Umano

Tissue

Cervello, lobo temporale, microvaso sanguigno

Disease

Endotelio microvascolare cerebrale normale (immortalizzato con hTERT e SV40; modello di barriera emato-encefalica; non tumorigenico)

Metastatic site

Non applicabile (linea cellulare endoteliale cerebrale normale; non si tratta di un campione tumorale)

Applications

Ricerca sulla barriera emato-encefalica (BBB); neuroinfiammazione; somministrazione di farmaci al sistema nervoso centrale e permeabilità; migrazione transendoteliale; biologia delle giunzioni strette (claudina-5, occludina, ZO-1); modellizzazione delle malattie neurologiche; risposte allo stress da taglio; test di neurotossicità

Synonyms

HCMEC/D3, CMEC/D3, cellule endoteliali di microvasi corticali umani/D3

Caratteristiche

Age

Adulti

cellule hCMEC/D3 | 305024

Gender Donna

Ethnicity Non specificato

Morphology Endoteliale

Cell type Cellula endoteliale

Growth properties Aderente

Dati normativi

Citation hCMEC/D3 (catalogo Cytion numero 305024)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_U985

GMO Status GMO-S1: Questa linea di cellule endoteliali microvascolari umane (hCMEC/D3) contiene costrutti lentivirali che codificano l'antigene T di SV40 o hTERT, supportando l'immortalizzazione stabile. L'inserito è integrato in cellule endoteliali primarie. Questa classificazione si applica solo in Germania e può differire altrove.

Dati biomolecolari

Viruses Trasformante: Simian virus 40 (SV40)

Manipolazione

Culture Medium EGM -2 MV Microvascular Endothelial Cell Growth Medium-2 BulletKit (da Lonza, numero di catalogo Lonza CC-3202)

Supplements Integrare il terreno basale EBM-2 fornito come raccomandato dal produttore

Dissociation Reagent Accutase oppure tripsina-EDTA allo 0,25% (brevemente; evitare un trattamento eccessivo con la tripsina)

Doubling time circa da 24 a 36 ore

cellule hCMEC/D3 | 305024

Subculturing Rimuovere il terreno di coltura, lavare con PBS privo di $\text{Ca}^{2+}/\text{Mg}^{2+}$, aggiungere Accutase (3–5 min a 37 °C), neutralizzare con terreno completo, centrifugare a 300×g per 5 min, riseminare a $1-2 \times 10^4$ cellule/cm² su fiasche rivestite di collagene.

Split ratio da 1 a 3

Seeding density da 1 a 2×10^4 cellule/cm² (su superfici rivestite di collagene I)

Fluid renewal Ogni 1 o 2 giorni

Freeze medium Come terreno di crioconservazione, utilizziamo 50% di terreno basale + 40% di FBS + 10% di DMSO, o CM-1 (Cytion numero di catalogo 800100), che include osmoprotettori e stabilizzatori metabolici ottimizzati per migliorare il recupero e ridurre lo stress criodotto.

Thawing and Culturing Cells

1. Verificare che la fiala rimanga profondamente congelata al momento della consegna, poiché le cellule vengono spedite con ghiaccio secco per mantenere le temperature ottimali durante il trasporto.
2. Al ricevimento, conservare immediatamente la criovial a temperature inferiori a -150°C per garantire la conservazione dell'integrità cellulare, oppure procedere al punto 3 se è necessaria una coltura immediata.
3. Per la coltura immediata, scongelare rapidamente la fiala immergendola in un bagno d'acqua a 37°C con acqua pulita e un agente antimicrobico, agitando delicatamente per 40-60 secondi finché non rimane un piccolo grumo di ghiaccio.
4. Eseguire tutte le fasi successive in condizioni di sterilità in una cappa a flusso, disinfettando la criovial con etanolo al 70% prima dell'apertura.
5. Aprire con cautela la fiala disinfettata e trasferire la sospensione cellulare in una provetta da centrifuga da 15 ml contenente 8 ml di terreno di coltura a temperatura ambiente, mescolando delicatamente.
6. Centrifugare la miscela a 300 x g per 3 minuti per separare le cellule e scartare con cura il surnatante contenente il terreno di coltura residuo.
7. Risospendere delicatamente il pellet cellulare in 10 ml di terreno di coltura fresco. Per le cellule aderenti, dividere la sospensione tra due fiasche di coltura T25; per le colture in sospensione, trasferire tutto il terreno in una fiasca T25 per promuovere l'interazione e la crescita delle cellule.
8. Attenersi ai protocolli di subcoltura stabiliti per la crescita e il mantenimento continui della linea cellulare, garantendo risultati sperimentali affidabili.

cellule hCMEC/D3 | 305024

Incubation Atmosphere 37°C, 5% CO₂, atmosfera umidificata.

Flask Coating Nessuno

Freezing Procedure Le linee cellulari crioconservate vengono spedite su ghiaccio secco in confezioni isolate e convalidate, con una quantità di refrigerante sufficiente a mantenere circa -78 °C durante il trasporto. Al ricevimento, ispezionare immediatamente il contenitore e trasferire immediatamente le fiale in un luogo di conservazione appropriato.

Shipping Conditions Le linee cellulari crioconservate vengono spedite su ghiaccio secco in confezioni isolate e convalidate, con una quantità di refrigerante sufficiente a mantenere circa -78 °C durante il trasporto. Al ricevimento, ispezionare immediatamente il contenitore e trasferire immediatamente le fiale in un luogo di conservazione appropriato.

Storage Conditions Per la conservazione a lungo termine, porre le fiale in azoto liquido in fase vapore a una temperatura compresa tra -150 e -196 °C circa. La conservazione a -80 °C è accettabile solo come breve fase intermedia prima del trasferimento in azoto liquido.

Controllo di qualità / Profilo genetico / HLA

Sterility La contaminazione da micoplasma viene esclusa utilizzando sia saggi basati sulla PCR sia metodi di rilevamento del micoplasma basati sulla luminescenza.

Per garantire l'assenza di contaminazione batterica, fungina o da lieviti, le colture cellulari sono sottoposte a ispezioni visive quotidiane.