

hCMEC/D3 ląstelės | 305024

Bendra informacija

Description

HCMEC/D3 ląstelių linija yra imortalizuota žmogaus smegenų mikrovaskulinio endotelio ląstelių linija, plačiai naudojama tiriant kraujo ir smegenų barjerą (BBB). Ši ląstelių linija buvo sukurta pirminės žmogaus smegenų mikrovaskulines endotelio ląsteles perleidus lentivirusiniu vektoriumi, ekspresuojančiu žmogaus telomerazės atvirkštinę transkriptazę (hTERT), kuri yra labai svarbus fermentas, palaikantis telomerų ilgį ir taip skatinantis ląstelių ilgaamžiškumą, tačiau nekeičiantis ląstelių fenotipo. hTERT įvedimas padeda šioms ląstelėms apeiti replikacinį senėjimą, kuris riboja pirminių ląstelių gyvavimo trukmę, ir leidžia jas nuolat dauginti kultūroje.

HCMEC/D3 ląstelės išlaiko pagrindines fiziologines ir morfologines pirminių smegenų endotelio ląstelių savybes, todėl jos yra vertingas in vitro BBB tyrimų modelis. Tarp jų yra glaudžios jungties baltymų, tokių kaip claudin-5, occludin ir zonula occludens-1, kurie yra labai svarbūs barjero vientisumui palaikyti, raiška. Ląstelės taip pat ekspresuoja įvairius smegenų endoteliumi būdingus pernešėjus ir receptorius, todėl jas galima naudoti atliekant tyrimus, susijusius su vaistų pristatymu ir neurovaskuliniais sutrikimais. HCMEC/D3 gebėjimas suformuoti sandarų monoslukšnį, pasižymintį didele elektrine varža, pabrėžia jų tinkamumą BBB pralaidumo tyrimams.

HCMEC/D3 ląstelės buvo plačiai naudojamos moksliniams tyrimams, įskaitant smegenų patologijų, tokių kaip insultas, išsėtinė sklerozė ir vėžio metastazės smegenyse, tyrimus. Dėl jų suderinamumo su įvairiais molekulinės biologijos metodais jos taip pat yra puikus įrankis tiriant endotelio ląstelių atsaką į uždegiminius dirgiklius, šlyties stresą ir neurotoksines medžiagas. Ši ląstelių linija yra patikima, atkurama platforma, leidžianti tirti molekulinis įvykius smegenų endotelio lygmenyje ir padedanti įgyti vertingų įžvalgų apie sudėtingą neurovaskulinę sveikatą ir ligas.

Organism

Žmogus

Tissue

Smegenys, momeninė skiltis, kraujo mikrokrauja

Disease

Normalus smegenų mikrovaskulinis endotelis (hTERT ir SV40 imortalizuotas; kraujosmegenų barjero modelis; netumorigeninis)

Metastatic site

Netaikoma (įprasta smegenų endotelio ląstelių linija; ne naviko mėginys)

Applications

Kraujo-smegenų barjero (BBB) tyrimai; neurouždegimas; vaistų patekimas į centrinę nervų sistemą ir pralaidumas; transendotelinė migracija; glaudžių jungčių biologija (klaudinas-5, okcludinas, ZO-1); neurologinių ligų modeliavimas; reakcijos į šlyties įtampą; neurotoksinio poveikio tyrimai

Synonyms

HCMEC/D3, CMEC/D3, žmogaus žievės mikrokraujagyslių endotelio ląstelės/D3

Charakteristikos

Age

Suaugusiųjų

Gender

Moteris

hCMEC/D3 ląstelės | 305024

Ethnicity	Nenurodyta
Morphology	Endotelis
Cell type	Endotelio ląstelė
Growth properties	Priglundęs

Reguliavimo duomenys

Citation	hCMEC/D3 (Cytion katalogo numeris 305024)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_U985
GMO Status	GMO-S1: Šioje žmogaus mikrokraujagyslių endotelio ląstelių linijoje (hCMEC/D3) yra lentivirusiniai konstruktai, koduojantys SV40 T-Antigeną arba hTERT, kurie palaiko stabilią imortalizaciją. Įdėklas integruojamas į pirmines endotelio ląsteles. Ši klasifikacija taikoma tik Vokietijoje ir gali skirtis kitose šalyse.

Biomolekuliniai duomenys

Viruses	Transformantas: Simiano virusas 40 (SV40)
----------------	---

Tvarkymas

Culture Medium	EGM -2 MV Mikrovaskulinių endotelio ląstelių augimo terpė-2 BulletKit (iš "Lonza", "Lonza" katalogo numeris CC-3202)
Supplements	Papildykite tiekiamą EBM-2 bazinę terpę, kaip rekomenduoja gamintojas
Dissociation Reagent	„Accutase“ arba 0,25 % tripsino-EDTA tirpalas (trumpai; nevykdysite pernelyg ilgo tripsinavimo)
Doubling time	maždaug nuo 24 iki 36 valandų

hCMEC/D3 ląstelės | 305024

Subculturing Pašalinkite terpę, nuplaukite PBS be $\text{Ca}^{2+}/\text{Mg}^{2+}$, įpilkite „Accutase“ (3–5 min. 37 °C temperatūroje), neutralizuokite pilna terpe, centrifuguokite 300×g 5 min., persėkite $1-2 \times 10^4$ ląstelių/cm² tankumu į kolagenu padengtus kolbelius.

Split ratio 1–3

Seeding density $1-2 \times 10^4$ ląstelių/cm² (ant kolagenu I sluoksniu padengtų paviršių)

Fluid renewal Kas 1–2 dienas

Freeze medium Kaip kriokonservavimo terpę naudojame 50 % bazinę terpę + 40 % FBS + 10 % DMSO arba CM-1 (Cytion katalogo numeris 800100), kurioje yra optimizuotų osmoprotektorių ir medžiagų apykaitos stabilizatorių, kad būtų pagerintas atsigavimas ir sumažintas kriokonservavimo sukeltas stresas.

Thawing and Culturing Cells

1. Patikrinkite, ar pristatant buteliuką jis išlieka gerai užšaldytas, nes ląstelės gabenamos ant sauso ledo, kad gabenimo metu būtų palaikoma optimali temperatūra.
2. Gavę iš karto laikykite kriovialą žemesnėje nei -150 °C temperatūroje, kad užtikrintumėte ląstelių vientisumo išsaugojimą, arba pereikite prie 3 veiksmo, jei reikia nedelsiant kultivuoti.
3. Jei norite nedelsiant pradėti kultivuoti, greitai atšildykite buteliuką panardindami jį į 37 °C temperatūros vandens vonelę su švariu vandeniu ir antimikrobine priemone, švelniai maišydami 40-60 sekundžių, kol liks nedidelis ledo gabalėlis.
4. Visus tolesnius veiksmus atlikite steriliomis sąlygomis srauto gaubte, prieš atidarydami kriovialą dezinfekuokite jį 70 % etanoliu.
5. Atsargiai atidarykite dezinfekuotą buteliuką ir perpilkite ląstelių suspensiją į 15 ml centrifugos mėgintuvėlį, kuriame yra 8 ml kambario temperatūros mitybinės terpės, atsargiai išmaišykite.
6. Mišinį centrifuguokite 300 x g greičiu 3 minutes, kad atsiskirtų ląstelės, ir atsargiai išmeskite supernatantą su šaldymo terpės likučiais.
7. Švelniai resuspenduokite ląstelių granules 10 ml šviežios mitybinės terpės. Jei ląstelės yra prigludusios, suspensiją padalykite į dvi T25 kolbas; jei tai suspensinės kultūros, visą terpę perkelti į vieną T25 kolbą, kad paskatintumėte veiksmingą ląstelių sąveiką ir augimą.
8. Laikykitės nustatytų subkultūrų protokolų, kad ląstelių linija nuolat augtų ir būtų palaikoma, taip užtikrinant patikimus eksperimentų rezultatus.

hCMEC/D3 ląstelės | 305024

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

Flask Coating Nėra

Freezing Procedure Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug -78 °C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkeltite mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

Shipping Conditions Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug -78 °C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkeltite mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

Storage Conditions Norėdami ilgai saugoti, įdėkite buteliukus į garų fazės skystą azotą maždaug -150-196 °C temperatūroje. Laikymas -80 °C temperatūroje yra priimtinas tik kaip trumpas tarpinis etapas prieš perkeltant į skystąjį azotą.

Kokybės kontrolė / Genetinis profilis / HLA

Sterility Mikoplazmos užterštumas atmetamas taikant PGR pagrįstus tyrimus ir liuminescencinius mikoplazmos aptikimo metodus.

Siekiant užtikrinti, kad nebūtų užteršimo bakterijomis, grybeliais ar mielėmis, ląstelių kultūros kasdien vizualiai tikrinamos.