

hCMEC/D3 šūnas | 305024

Vispārīga informācija

Description

HCMEC/D3 šūnu līnija ir imortizēta cilvēka smadzeņu mikrovaskulāro endotēlija šūnu līnija, ko plaši izmanto asins-smadzeņu barjeras (BBB) pētījumos. Šī šūnu līnija tika izveidota, transducējot primārās cilvēka cerebrālo mikrovaskulāro endotēliju šūnas ar lentivīrusu vektoru, kas ekspresē cilvēka telomerāzes reverso transkriptāzi (hTERT), kas ir būtisks enzīms telomēru garuma uzturēšanai un tādējādi veicina šūnu ilgmūžību, nepārveidojot šūnu fenotipu. hTERT ieviešana palīdz šīm šūnām apiet replikatīvo novecošanos, kas ierobežo primāro šūnu dzīves ilgumu, ļaujot tām ilgstoši vairoties kultūrā.

HCMEC/D3 šūnas saglabā galvenās fizioloģiskās un morfoloģiskās primāro smadzeņu endotēlija šūnu īpašības, padarot tās par vērtīgu modeli in vitro BBB pētījumiem. Tās ietver tādu ciešas savienošanās olbaltumvielu kā claudin-5, occludin un zonula occludens-1 ekspresiju, kas ir ļoti svarīgas barjeras integritātes uzturēšanai. Šūnas arī ekspresē dažādus smadzeņu endotēlijam raksturīgus transportierus un receptorus, kas veicina to izmantošanu pētījumos, kas saistīti ar zāļu piegādi un neirovaskulāriem traucējumiem. HCMEC/D3 spēja veidot blīvu monoslāni ar augstu elektrisko pretestību uzsver to piemērotību BBB caurlaidības testiem.

HCMEC/D3 šūnu pētījumi aptver plašu pielietojumu spektru, tostarp smadzeņu patoloģiju, piemēram, insulta, multiplās sklerozes un vēža metastāžu smadzenēs, izpēti. To savietojamība ar dažādām molekulārās bioloģijas metodēm padara tās arī par lielisku līdzekli, lai pētītu endotēlija šūnu reakciju uz iekaisuma stimuliem, bīdes stresu un neirotoksiskām vielām. Šī šūnu līnija nodrošina stabilu, reproducējamu platformu molekulāro notikumu izpētei smadzeņu endotēlija līmenī, sniedzot vērtīgu ieskatu neirovaskulārās veselības un slimību sarežģītībā.

Organism

Cilvēks

Tissue

Smadzenes, spurālā daiva, asins mikrovasels

Disease

Normāls smadzeņu mikrovaskulārais endotēlijs (hTERT un SV40 imortalizēts; asins-smadzeņu barjeras modelis; netumorigēns)

Metastatic site

Neattiecas (parasta smadzeņu endotēlija šūnu līnija; nav audzēja paraugs)

Applications

Asins-smadzeņu barjeras (BBB) pētījumi; neuroiekaisums; zāļu nogādāšana centrālajā nervu sistēmā un caurlaidība; transendotēliālā migrācija; ciešo savienojumu bioloģija (klaudīns-5, okludīns, ZO-1); neiroloģisko slimību modelēšana; reakcijas uz šķērspiedienu; neirotoksicitātes testēšana

Synonyms

HCMEC/D3, CMEC/D3, cilvēka garozas mikrovēkļu endotēlija šūnas/D3

Raksturojums

Age

Pieaugušo

Gender

Sievietes

hCMEC/D3 šūnas | 305024

Ethnicity Nav norādīts**Morphology** Endotēlija**Cell type** Endotēlija šūna**Growth properties** Adherent**Normatīvie dati****Citation** hCMEC/D3 (Cytion kataloga numurs 305024)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_U985**GMO Status** GMO-S1: Šī cilvēka mikrovaskulāro endotēlija šūnu līnija (hCMEC/D3) satur lentivīrusu konstruktus, kas kodē SV40 T-antigēnu vai hTERT, kas veicina stabilu imortalizāciju. Inserts ir integrēts primārajās endotēlija šūnās. Šī klasifikācija attiecas tikai uz Vāciju un var atšķirties citur.**Biomolekulārie dati****Viruses** Transformants: Sīmiāna vīruss 40 (SV40)**Darbs ar****Culture Medium** EGM -2 MV Microvascular Endothelial Cell Growth Medium-2 BulletKit (no Lonza, Lonza kataloga numurs CC-3202)**Supplements** Papildiniet piegādāto EBM-2 bāzes barotni, kā ieteicis ražotājs**Dissociation Reagent** Accutase vai 0,25 % tripsīns-EDTA (īsi; neapstrādājiet ar tripsīnu pārāk ilgi)**Doubling time** aptuveni 24 līdz 36 stundas

hCMEC/D3 šūnas | 305024

Subculturing Noņemiet barotni, nomazgājiet ar PBS bez $\text{Ca}^{2+}/\text{Mg}^{2+}$, pievienojiet Accutase (3–5 minūtes 37 °C temperatūrā), neitralizējiet ar pilnvērtīgu barotni, centrifugējiet 300×g 5 minūtes, pārstādiet ar blīvumu $1-2 \times 10^4$ šūnas/cm² uz kolagēna pārklātām kolbām.

Split ratio no 1 līdz 3

Seeding density 1 līdz 2×10^4 šūnas/cm² (uz ar I tipa kolagēnu pārklātām virsmām)

Fluid renewal Reizi 1–2 dienās

Freeze medium Kā kriokonservēšanas barotni mēs izmantojam 50 % bāzes barotni + 40 % FBS + 10 % DMSO vai CM-1 (Cytion kataloga numurs 800100), kas ietver optimizētus osmoprotektorus un metaboliskos stabilizatorus, lai uzlabotu reģenerāciju un samazinātu krioinducēto stresu.

Thawing and Culturing Cells

1. Pārlicinieties, ka pēc piegādes flakons paliek dziļi sasaldēts, jo šūnas tiek sūtītas uz sausā ledus, lai pārvadāšanas laikā saglabātu optimālu temperatūru.
2. Pēc saņemšanas vai nu nekavējoties uzglabāt kriovialu temperatūrā, kas zemāka par -150 °C, lai nodrošinātu šūnu integritātes saglabāšanu, vai arī turpināt 3. posmu, ja nepieciešama tūlītēja kultivēšana.
3. Tūlītējas kultivēšanas gadījumā ātri atkausējiet flakonu, iegremdējot to 37°C ūdens vannā ar tīru ūdeni un antibakteriālu līdzekli, viegli maisot 40-60 sekundes, līdz paliek neliels ledus gabaliņš.
4. Visas turpmākās darbības veiciet sterilos apstākļos plūsmas nosūcējā, pirms atvēršanas dezinficējot kriovialu ar 70% etanolu.
5. Uzmanīgi atveriet dezinficēto flakonu un pārnesiet šūnu suspensiju 15 ml centrifūgas mēģenē, kurā ir 8 ml istabas temperatūras barotnes, uzmanīgi samaisot.
6. Centrifugējiet maisījumu ar 300 x g 3 minūtes, lai atdalītu šūnas, un uzmanīgi izmetiet virskārtu, kas satur saldēšanas barotnes atlikumus.
7. Viegli resuspendēt šūnu granulas 10 ml svaigas barotnes. Adhēzijas šūnu gadījumā suspensiju sadalīt divās T25 kolbās; suspensijas kultūrām visu barotni pārnest vienā T25 kolbā, lai veicinātu efektīvu šūnu mijiedarbību un augšanu.
8. Ievērojiet noteiktos subkultūru protokolus, lai nodrošinātu nepārtrauktu šūnu līnijas augšanu un uzturēšanu, tādējādi nodrošinot uzticamus eksperimentu rezultātus.

hCMEC/D3 šūnas | 305024

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

Flask Coating Nevienš

Freezing Procedure Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidrums daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

Shipping Conditions Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidrums daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

Storage Conditions Ilgstošai uzglabāšanai flakonus ievietojiet šķidrā slāpekļī ar tvaika fāzi aptuveni -150 līdz -196 °C temperatūrā. Uzglabāšana -80 °C temperatūrā ir pieļaujama tikai kā īss starposms pirms pārvietošanas uz šķidro slāpekli.

Kvalitātes kontrole / Ģenētiskais profils / HLA

Sterility Mikoplazmas piesārņojums tiek izslēgts, izmantojot gan uz PCR balstītus testus, gan uz luminiscenci balstītas mikoplazmas noteikšanas metodes.

Lai pārlicinātos, ka nav baktēriju, sēnīšu vai rauga piesārņojuma, šūnu kultūras katru dienu vizuāli pārbauda.