

Bend.3 Šūnas | 305265**Vispārīga informācija****Description**

Bend.3 šūnu līnija ir iegūta no peļu smadzeņu endotēlija šūnām un tiek plaši izmantota neirovaskulārajos pētījumos. Šīs šūnas kalpo kā modelis, lai pētītu hematoencefālisko barjeru (BBB), kas ir būtiska struktūra, kura regulē vielu nokļūšanu no asinsrites uz smadzenēm. Bend.3 šūnas ir noderīgas, pētot molekulāros un šūnu mehānismus, kas regulē BBB integritāti, caurlaidību un transporta funkcijas. Pētnieki izmanto Bend.3 šūnas, lai pētītu dažādu neiroloģisku traucējumu, piemēram, insulta, Alcheimera slimības un multiplās sklerozes, kuru raksturīga iezīme ir BBB disfunkcija, patofizioloģiju.

Bend.3 šūnām piemīt endotēlija īpašības, tostarp tādu blīvas savienošāns olbaltumvielu kā okludīns, kladīns un zonula occludens-1 (ZO-1) ekspresija, kas ir būtiskas BBB selektīvās caurlaidības uzturēšanai. Tās arī ekspresē tādas endotēlija šūnām raksturīgus marķierus kā CD31 un fon Villebranda faktors. Bend.3 šūnas reaģē uz iekaisuma stimuliem un oksidatīvo stresu, tāpēc tās ir piemērotas pētījumiem par BBB traucējumiem un neirona iekaisumu. Turklāt šo šūnu līniju izmanto, lai novērtētu to farmakoloģisko līdzekļu efektivitāti un drošību, kas paredzēti, lai šķērsotu BBB, palīdzot izstrādāt ārstēšanas līdzekļus centrālās nervu sistēmas traucējumu ārstēšanai. Bend.3 šūnu lietderība neirovaskulārās vienības modelēšanā uzsver to nozīmi, lai uzlabotu mūsu izpratni par smadzeņu endotēlija šūnu bioloģiju un neiroterapiju izstrādi.

Organism

Pele

Tissue

Smadzenes, smadzeņu garoza

Disease

Endotelioma

Synonyms

bEND.3, b.End3, bEnd.3, bEnd3, BEND3, smadzeņu izcelsmes endotēlija šūnas.3

Raksturojums**Breed/Subspecies**

BALB/c

Age

6 nedēļas

Gender

Nav norādīts

Morphology

Endotēlija

Cell type

Endotēlija šūna

Growth properties

Adherent

Normatīvie dati

Bend.3 Šūnas | 305265

Citation	Bend.3 (Cytion kataloga numurs 305265)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	10090
CellosaurusAccession	CVCL_0170
GMO Status	GMO-S1: Šī peļu endotēlija šūnu līnija (bEnd.3) satur NTKmT retrovīrusa vektora kodētu poliomasvīrusa vidējā T antigēnu, kas veicina transformāciju un pastiprinātu proliferāciju. Konstrukts ir stabili sastopams smadzeņu mikrovaskulāro endotēliju šūnās. Šī klasifikācija attiecas tikai uz Vāciju un var atšķirties citur.

Biomolekulārie dati

Antigen expression	ICAM-1 +, VCAM-1 +, MAdCAM-1 +
Viruses	Transformants: (MPyV) vidējais T antigēns (PyMT): Murine polyomavirus (celms A2) (MPyV)

Darbs ar

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/l glikozes, w: 4 mM L-glutamīna, w: 3,7 g/l NaHCO ₃ , w: 1,0 mM nātrija piruvāta (Cytion izstrādājuma numurs 820300a)
Supplements	Papildināt barotni ar 10% FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Noņemt veco barotni no pielipušajām šūnām un mazgāt tās ar PBS, kurā nav kalcija un magnija. T25 kolbām izmantotiet 3-5 ml PBS, bet T75 kolbām - 5-10 ml. Pēc tam pilnībā pārklājiet šūnas ar Accutase, izmantojot 1-2 ml T25 kolbām un 2,5 ml T75 kolbām. Ļaujiet šūnām inkubēties istabas temperatūrā 8-10 minūtes, lai tās atdalītos. Pēc inkubācijas uzmanīgi samaisiet šūnas ar 10 ml barotnes, lai tās atkārtoti suspendētu, pēc tam centrifugējiet 3 minūtes ar 300xg. Izmetiet supernatantu, atkārtoti suspendējiet šūnas svaigā barotnē un pārvietojiet tās jaunās kolbās, kurās jau ir svaiga barotne.
Freeze medium	Kā kriokonservēšanas barotni mēs izmantojam pilnvērtīgu augšanas barotni (ieskaitot FBS) + 10 % DMSO, lai nodrošinātu pietiekamu dzīvotspēju pēc atkausēšanas, vai CM-1 (Cytion kataloga numurs 800100), kas ietver optimizētus osmoprotektorus un metaboliskos stabilizatorus, lai uzlabotu atveseļošanos un samazinātu krioinducēto stresu.

Bend.3 Šūnas | 305265

Thawing and Culturing Cells

1. Pārliecinieties, 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.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO_2 , mitrināta atmosfēra.

Flask Coating

Optimālai piestiprināšanai un dzīvotspējai pēc atkausēšanas ieteicams izmantot **ar kolagēnu pārklātas kolbas vai plates**.

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.

Bend.3 Šūnas | 305265

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.