

hCMEC/D3-cellen | 305024

Algemene informatie

Description

De HCMEC/D3-cel lijn vertegenwoordigt een geïmmortaliseerde menselijke cerebrale microvasculaire endotheelcel lijn, die uitgebreid wordt gebruikt bij het bestuderen van de bloed-hersenbarrière (BBB). Deze cel lijn werd gegenereerd door transductie van primaire humane cerebrale microvasculaire endotheelcellen met een lentivirale vector die humaan telomerase reverse transcriptase (hTERT) uitdrukt, een cruciaal enzym voor het handhaven van telomeerlengte en daardoor het bevorderen van cellulaire levensduur zonder het fenotype van de cel te veranderen. De introductie van hTERT helpt deze cellen om de replicatieve senescentie, die de levensduur van primaire cellen beperkt, te omzeilen, waardoor duurzame vermeerdering in cultuur mogelijk is.

HCMEC/D3 cellen behouden belangrijke fysiologische en morfologische eigenschappen van primaire cerebrale endotheelcellen, waardoor ze een waardevol model zijn voor in vitro studies van de BBB. Hieronder valt de expressie van tight junction-eiwitten zoals claudine-5, occludine en zonula occludens-1, die essentieel zijn voor het behoud van de integriteit van de barrière. De cellen brengen ook verschillende transporters en receptoren tot expressie die typerend zijn voor het cerebrale endotheel, waardoor ze gebruikt kunnen worden in onderzoeken naar de toediening van medicijnen en neurovasculaire aandoeningen. Het vermogen van HCMEC/D3 om een hechte monolaag te vormen met een hoge elektrische weerstand onderstreept hun geschiktheid voor doorlaatbaarheidstests van de BBB.

Onderzoek met HCMEC/D3 cellen heeft een breed scala aan toepassingen, waaronder het onderzoeken van cerebrale pathologieën zoals beroerte, multiple sclerose en uitzaaiing van kanker naar de hersenen. Door hun compatibiliteit met verschillende moleculaire biotechnieken zijn ze ook een uitstekend hulpmiddel voor het bestuderen van de respons van endotheelcellen op ontstekingsstimuli, schuifspanning en neurotoxische stoffen. Deze cel lijn biedt een robuust, reproduceerbaar platform voor het ontleden van de moleculaire gebeurtenissen op het cerebrale endotheelniveau en draagt zo bij aan waardevolle inzichten in de complexiteit van neurovasculaire gezondheid en ziekte.

Organism Mens

Tissue Hersenen, temporale kwab, bloed microvaatje

Synonyms HCMEC/D3, CMEC/D3, menselijke Corticale Microvessels Endotheelcellen/D3

Kenmerken

Age Volwassen

Gender Vrouw

Morphology Endotheel

Cell type Endotheelcel

hCMEC/D3-cellen | 305024

Growth properties Aanhangend

Regelgevende gegevens

Citation hCMEC/D3 (Cytion catalogusnummer 305024)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_U985

GMO Status GMO-S1: Deze menselijke microvasculaire endotheelcellijn (hCMEC/D3) bevat lentivirale constructen die coderen voor SV40 T-antigeen of hTERT en stabiele immortalisatie ondersteunen. Het insert wordt geïntegreerd in primaire endotheelcellen. Deze classificatie is alleen van toepassing binnen Duitsland en kan elders afwijken.

Biomoleculaire gegevens

Viruses Transformant: Simian virus 40 (SV40)

Omgaan met

Culture Medium EGM -2 MV Microvasculair Endotheelcel Groeimedium-2 BulletKit (van Lonza, Lonza catalogusnummer CC-3202)

Supplements Vul het meegeleverde EBM-2 basismedium aan zoals aanbevolen door de fabrikant

Freeze medium Als cryoconserveringsmedium gebruiken we 50% basaal medium + 40% FBS + 10% DMSO, of CM-1 (Cytion catalogusnummer 800100), dat geoptimaliseerde osmoprotectanten en metabolische stabilisatoren bevat om het herstel te verbeteren en cryogeïnduceerde stress te verminderen.

hCMEC/D3-cellen | 305024

Thawing and Culturing Cells

1. Controleer of de flacon bij levering diepgevroren blijft, aangezien de cellen op droog ijs worden verzonden om optimale temperaturen tijdens het transport te behouden.
2. Bewaar het cryoflesje na ontvangst onmiddellijk bij temperaturen lager dan $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ om de integriteit van de cellen te behouden, of ga verder met stap 3 als onmiddellijke kweek vereist is.
3. Voor onmiddellijke kweek: ontdooi de flacon snel door deze onder te dompelen in een waterbad van $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ met schoon water en een antimicrobieel middel, waarbij u 40-60 seconden zachtjes schudt totdat er een klein ijsklontje overblijft.
4. Voer alle volgende stappen uit onder steriele omstandigheden in een stromingskap en desinfecteer de cryoflacon met 70% ethanol voordat deze wordt geopend.
5. Open voorzichtig de gedesinfecteerde flacon en breng de celsuspensie over in een centrifugebuis van 15 ml met 8 ml kweekmedium op kamertemperatuur en meng voorzichtig.
6. Centrifugeer het mengsel gedurende 3 minuten bij $300 \times g$ om de cellen te scheiden en gooi het supernatant met resterend vriesmedium voorzichtig weg.
7. Resuspendeer de celpellet voorzichtig in 10 ml vers kweekmedium. Verdeel voor adherente cellen de suspensie over twee T25-kweekkolven; breng voor suspensiekweken al het medium over in één T25-kweekkolf om effectieve celinteractie en -groei te bevorderen.
8. Houd u aan de vastgestelde subcultuurprotocollen voor continue groei en onderhoud van de cellijn, om betrouwbare experimentele resultaten te garanderen.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , bevochtigde atmosfeer.

Flask Coating

Geen

Freezing Procedure

Gecryopreserveerde cellijnen worden verzonden op droog ijs in gevalideerde, geïsoleerde verpakkingen met voldoende koelmiddel om gedurende het transport ongeveer $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ te handhaven. Inspecteer de verpakking onmiddellijk na ontvangst en breng de flacons onverwijld over naar de juiste opslagplaats.

Shipping Conditions

Gecryopreserveerde cellijnen worden verzonden op droog ijs in gevalideerde, geïsoleerde verpakkingen met voldoende koelmiddel om gedurende het transport ongeveer $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ te handhaven. Inspecteer de verpakking onmiddellijk na ontvangst en breng de flacons onverwijld over naar de juiste opslagplaats.

hCMEC/D3-cellen | 305024

Storage Conditions

Voor langdurige bewaring plaatst u flesjes in vloeibare stikstof in dampfase bij ongeveer -150 tot -196 °C. Opslag bij -80 °C is alleen aanvaardbaar als korte tussenstap vóór overbrenging naar vloeibare stikstof.

Kwaliteitscontrole / Genetisch profiel / HLA

Sterility

Mycoplasma-verontreiniging wordt uitgesloten met zowel PCR-gebaseerde testen als op luminescentie gebaseerde mycoplasma-detectiemethoden.

Om er zeker van te zijn dat er geen besmetting is met bacteriën, schimmels of gisten, worden de celculturen dagelijks onderworpen aan visuele inspecties.