

Bend.3 Cellen | 305265**Algemene informatie****Description**

De Bend.3 cellijn is afgeleid van muizenhersenenendothelcellen en wordt veel gebruikt in neurovasculair onderzoek. Deze cellen dienen als model voor het bestuderen van de bloed-hersenbarrière (BBB), een cruciale structuur die de doorgang van stoffen van de bloedbaan naar de hersenen regelt. Bend.3 cellen zijn essentieel bij het onderzoeken van de moleculaire en cellulaire mechanismen die de integriteit, doorlaatbaarheid en transportfuncties van de BBB bepalen. Onderzoekers gebruiken Bend.3 cellen om de pathofysiologie van verschillende neurologische aandoeningen te onderzoeken, zoals beroerte, de ziekte van Alzheimer en multiple sclerose, waarbij disfunctie van de BBB een kenmerk is.

Bend.3 cellen vertonen endotheliale kenmerken, waaronder de expressie van tight junction eiwitten zoals occludine, claudine en zonula occludens-1 (ZO-1), die essentieel zijn voor het in stand houden van de selectieve doorlaatbaarheid van de BBB. Ze brengen ook markers als CD31 en von Willebrand factor tot expressie, die typisch zijn voor endothelcellen. Bend.3 cellen reageren op ontstekingsstimuli en oxidatieve stress, waardoor ze geschikt zijn voor studies naar de verstoring van de BBB en neuro-inflammatie. Daarnaast wordt deze cellijn gebruikt om de werkzaamheid en veiligheid te beoordelen van farmacologische middelen die bedoeld zijn om de BBB te passeren, wat helpt bij de ontwikkeling van behandelingen voor aandoeningen van het centrale zenuwstelsel. Het nut van Bend.3 cellen bij het modelleren van de neurovasculaire eenheid onderstreept hun belang voor het bevorderen van ons begrip van de endothelcelbiologie van de hersenen en de ontwikkeling van neurotherapeutica.

Organism

Muis

Tissue

Hersenen, hersenschors

Disease

Endotheliomen

Synonyms

bEND.3, b.End3, bEnd.3, bEnd3, BEND3, uit de hersenen afkomstige endothelcellen.3

Kenmerken**Breed/Subspecies**

BALB/c

Age

6 weken

Gender

Ongespecificeerd

Morphology

Endotheel

Cell type

Endotheelcel

Growth properties

Aanhangend

Bend.3 Cellen | 305265**Regelgevende gegevens**

Citation	Bend.3 (Cytion catalogusnummer 305265)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	10090
CellosaurusAccession	CVCL_0170
GMO Status	GMO-S1: Deze murine endotheelcellijn (bEnd.3) bevat een polyomavirus midden T-antigeen gecodeerd door de NTKmT retrovirale vector, die transformatie en verhoogde proliferatie stimuleert. Het construct is stabiel aanwezig in microvasculaire endotheelcellen van de hersenen. Deze classificatie is alleen van toepassing binnen Duitsland en kan elders afwijken.

Biomoleculaire gegevens

Antigen expression	ICAM-1 +, VCAM-1 +, MAdCAM-1 +
Viruses	Transformant: Murien polyomavirus (stam A2) (MPyV) middelste T-antigeen (PyMT)

Omgaan met

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/L Glucose, w: 4 mM L-Glutamine, w: 3,7 g/L NaHCO ₃ , w: 1,0 mM Natriumpyruvaat (Cytion artikelnummer 820300a)
Supplements	Vul het medium aan met 10% FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Verwijder het oude medium van de adherente cellen en was ze met PBS zonder calcium en magnesium. Gebruik voor T25-flesjes 3-5 ml PBS en voor T75-flesjes 5-10 ml. Bedek de cellen vervolgens volledig met Accutase, met 1-2 ml voor T25-flesjes en 2,5 ml voor T75-flesjes. Laat de cellen gedurende 8-10 minuten bij kamertemperatuur incuberen om ze los te maken. Na incubatie de cellen voorzichtig mengen met 10 ml medium om ze te resuspenderen en vervolgens centrifugerend bij 300xg gedurende 3 minuten. Gooi het supernatant weg, resuspendeer de cellen in vers medium en breng ze over in nieuwe kolven die al vers medium bevatten.
Split ratio	Een verhouding van 1:4 wordt aanbevolen

Bend.3 Cellen | 305265

Freeze medium

Als cryoconserveringsmedium gebruiken we volledig groeimeidium (inclusief FBS) + 10% DMSO voor voldoende levensvatbaarheid na het ontdooien, of CM-1 (Cytion catalogusnummer 800100), dat geoptimaliseerde osmoprotectanten en metabolische stabilisatoren bevat om het herstel te verbeteren en door cryo geïnduceerde stress te verminderen.

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

Voor een optimale hechting en levensvatbaarheid na het ontdooien raden we aan **met collageen gecoate kolven of platen** te gebruiken.

Bend.3 Cellen | 305265

Freezing Procedure

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

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.