

hCMEC/D3-celler | 305024

Generell informasjon

Description

HCMEC/D3-cellelinjen representerer en udødeliggjort human cerebral mikrovaskulær endotelcellelinje, som er mye brukt i studier av blod-hjerne-barrieren (BBB). Denne cellelinjen ble generert gjennom transduksjon av primære humane cerebrale mikrovaskulære endotelceller med en lentiviral vektor som uttrykker human telomerase revers transkriptase (hTERT), et enzym som er avgjørende for å opprettholde telomerlengden og dermed fremme cellers levetid uten å endre cellenes fenotype. Introduksjonen av hTERT hjelper disse cellene til å omgå den replikative senescensen som begrenser levetiden til primærceller, slik at de kan forplantes i kultur.

HCMEC/D3-celler beholder viktige fysiologiske og morfologiske egenskaper fra primære cerebrale endotelceller, noe som gjør dem til en verdifull modell for in vitro-studier av BBB. Blant annet uttrykker de tight junction-proteiner som claudin-5, occludin og zonula occludens-1, som er avgjørende for å opprettholde barriereintegriteten. Cellene uttrykker også ulike transportører og reseptorer som er typiske for det cerebrale endotelet, noe som taler for at de kan brukes i studier knyttet til legemiddeladministrasjon og nevrovaskulære lidelser. HCMEC/D3s evne til å danne et tett monolag med høy elektrisk motstand understreker deres egnethet for permeabilitetsanalyser av BBB.

Forskningen på HCMEC/D3-celler har dekket et bredt spekter av bruksområder, blant annet undersøkelser av hjernesykdommer som hjerneslag, multippel sklerose og metastaser av kreft i hjernen. Cellenes kompatibilitet med ulike molekylærbiologiske teknikker gjør dem også til et utmerket verktøy for å studere endotelcellers respons på inflammatoriske stimuli, skjærstress og nevrotoksiske stoffer. Denne cellelinjen utgjør en robust, reproducerbar plattform for dissekering av molekylære hendelser på cerebralt endotelnivå, noe som bidrar med verdifull innsikt i kompleksiteten i nevrovaskulær helse og sykdom.

Organism

Menneskelig

Tissue

Hjerne, tinninglapp, mikrobloodkar

Synonyms

HCMEC/D3, CMEC/D3, humane kortikale mikrokar endotelceller/D3

Kjennetegn

Age

Voksen

Gender

Kvinne

Morphology

Endotelial

Cell type

Endotelcelle

Growth properties

Vedhengende

Regulatoriske data

hCMEC/D3-celler | 305024

Citation hCMEC/D3 (Cytion katalognummer 305024)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_U985

GMO Status GMO-S1: Denne humane mikrovaskulære endotelcellelinjen (hCMEC/D3) inneholder lentivirale konstruksjoner som koder for SV40 T-antigen eller hTERT, noe som støtter stabil udødeliggjøring. Innsettet er integrert i primære endotelceller. Denne klassifiseringen gjelder bare i Tyskland og kan avvike andre steder.

Biomolekylære data

Viruses Transformant: Simian virus 40 (SV40)

Håndtering

Culture Medium EGM -2 MV Microvascular Endothelial Cell Growth Medium-2 BulletKit (fra Lonza, Lonza-katalognummer CC-3202)

Supplements Suppler det medfølgende EBM-2 Basal Medium som anbefalt av produsenten

Freeze medium Som kryopreserveringsmedium bruker vi 50 % basalmedium + 40 % FBS + 10 % DMSO, eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som inneholder optimaliserte osmobeskyttende midler og metabolske stabilisatorer for å øke utvinningen og redusere kryoindusert stress.

hCMEC/D3-celler | 305024

Thawing and Culturing Cells

1. Kontroller at hetteglasset er dypfrost ved levering, ettersom cellene sendes på tørris for å opprettholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved mottak skal hetteglasset enten oppbevares umiddelbart ved temperaturer under $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ for å sikre at cellenes integritet bevares, eller gå videre til trinn 3 hvis umiddelbar dyrking er nødvendig.
3. Ved umiddelbar dyrking tiner du hetteglasset raskt ved å senke det ned i et $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ varmt vannbad med rent vann og et antimikrobielt middel, og røre forsiktig i 40-60 sekunder til det blir en liten isklump igjen.
4. Utfør alle påfølgende trinn under sterile forhold i en strømningshette, og desinfiser kryoflasken med 70 % etanol før du åpner den.
5. Åpne det desinfiserte hetteglasset forsiktig, og overfør cellesuspensjonen til et 15 ml sentrifugerør som inneholder 8 ml romtemperert dyrkingsmedium, og bland forsiktig.
6. Sentrifuger blandingen ved $300 \times g$ i 3 minutter for å separere cellene, og kast supernatanten som inneholder rester av frysemedium, forsiktig.
7. Resuspender cellepelletten forsiktig i 10 ml nytt dyrkingsmedium. For adherente celler, del suspensjonen mellom to T25-kulturkolber; for suspensjonskulturer, overfør alt mediet til én T25-kolbe for å fremme effektiv celleinteraksjon og vekst.
8. Følg etablerte subkulturprotokoller for fortsatt vekst og vedlikehold av cellelinjen, noe som sikrer pålitelige eksperimentelle resultater.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5 % CO_2 , befuktet atmosfære.

Flask Coating

For optimal feste og levedyktighet etter tining anbefaler vi å bruke **kollagenbelagte kolber eller plater**.

Freezing Procedure

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca. $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

Shipping Conditions

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca. $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

hCMEC/D3-celler | 305024

Storage Conditions

For langtidsoppbevaring plasseres hetteglassene i flytende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Lagring ved -80 °C er kun akseptabelt som et kort mellomtrinn før overføring til flytende nitrogen.

Kvalitetskontroll / Genetisk profil / HLA

Sterility

Mykoplasma-kontaminering utelukkes ved hjelp av både PCR-baserte analyser og luminescensbaserte metoder for påvisning av mykoplasma.

For å sikre at det ikke finnes bakterie-, sopp- eller gjærkontaminering, blir cellekulturene inspisert visuelt hver dag.