

Bøy.3 Celler | 305265**Generell informasjon****Description**

Bend.3-cellelinjen er avledet fra endotelceller i musehjernen og er mye brukt i nevrovaskulær forskning. Disse cellene fungerer som en modell for å studere blod-hjerne-barrieren (BBB), en kritisk struktur som regulerer passasjen av stoffer fra blodbanen til hjernen. Bend.3-celler er avgjørende for å utforske de molekylære og cellulære mekanismene som styrer BBBs integritet, permeabilitet og transportfunksjoner. Forskere bruker Bend.3-celler til å undersøke patofysiologien ved ulike nevrologiske lidelser, som hjerneslag, Alzheimers sykdom og multipel sklerose, der dysfunksjon i BBB er et kjennetegn.

Bend.3-celler har endotelegenskaper, blant annet uttrykk for tight junction-proteiner som occludin, claudin og zonula occludens-1 (ZO-1), som er avgjørende for å opprettholde den selektive permeabiliteten i BBB. De uttrykker også markører som CD31 og von Willebrand-faktor, som er typiske for endotelceller. Bend.3-celler reagerer på inflammatoriske stimuli og oksidativt stress, noe som gjør dem egnet for studier av forstyrrelser i BBB og nevroinflammasjon. I tillegg brukes denne cellelinjen til å vurdere effekten og sikkerheten til farmakologiske midler som er beregnet på å krysse BBB, noe som bidrar til utviklingen av behandlinger for sykdommer i sentralnervesystemet. Bend.3-cellenes anvendelighet i modelleringen av den nevrovaskulære enheten understreker deres betydning for vår forståelse av hjerneendotelcellenes biologi og utviklingen av neuroterapeutiske legemidler.

Organism

Mus

Tissue

Hjerne, hjernebark

Disease

Endoteliom

Synonyms

bEND.3, b.End3, bEnd.3, bEnd3, BEND3, hjerneavlede endotelceller.3

Kjennetegn**Breed/Subspecies**

BALB/c

Age

6 uker

Gender

Uspesifisert

Morphology

Endotelial

Cell type

Endotelcelle

Growth properties

Vedhengende

Bøy.3 Celler | 305265**Regulatoriske data**

Citation	Bend.3 (Cytion katalognummer 305265)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	10090
CellosaurusAccession	CVCL_0170
GMO Status	GMO-S1: Denne murine endotelcellelinjen (bEnd.3) inneholder et polyomavirus midt-T-antigen kodet av NTKmT-retroviralvektoren, som driver transformasjon og økt proliferasjon. Konstruktet er stabilt til stede i mikrovaskulære endotelceller i hjernen. Denne klassifiseringen gjelder bare i Tyskland og kan variere andre steder.

Biomolekylære data

Antigen expression	ICAM-1 +, VCAM-1 +, MAdCAM-1 +
Viruses	Transformant: Murint polyomavirus (stamme A2) (MPyV) midtre T-antigen (PyMT)

Håndtering

Culture Medium	DMEM, m: 4,5 g/L glukose, m: 4 mM L-glutamin, m: 3,7 g/L NaHCO ₃ , m: 1,0 mM natriumpyruvat (Cytion artikkelnummer 820300a)
Supplements	Suppler mediet med 10 % FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Fjern det gamle mediet fra de adherente cellene, og vask dem med PBS uten kalsium og magnesium. Bruk 3-5 ml PBS for T25-kolber og 5-10 ml for T75-kolber. Dekk deretter cellene helt med Accutase, med 1-2 ml for T25-kolber og 2,5 ml for T75-kolber. La cellene inkubere i romtemperatur i 8-10 minutter for å løsne dem. Etter inkubasjon blandes cellene forsiktig med 10 ml medium for å resuspendere dem, og sentrifuger deretter ved 300xg i 3 minutter. Kast supernatanten, resuspend cellene i nytt medium, og overfør dem til nye kolber som allerede inneholder nytt medium.
Split ratio	Et forhold på 1:4 anbefales

Bøy.3 Celler | 305265

Freeze medium

Som kryopreserveringsmedium bruker vi komplett vekstmedium (inkludert FBS) + 10 % DMSO for tilstrekkelig levedyktighet etter opptining, eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som inneholder optimaliserte osmobeskyttende midler og metabolske stabilisatorer for å øke utvinningen og redusere kryoindusert stress.

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 dyrkningsmedium. 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.

Bøy.3 Celler | 305265

Shipping Conditions

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

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.