

## komórki hCMEC/D3 | 305024

## Informacje ogólne

## Description

Linia komórkowa HCMEC/D3 reprezentuje unieśmiertelnioną linię ludzkich komórek śródbłonka mikronaczyniowego mózgu, szeroko wykorzystywaną w badaniach bariery krew-mózg (BBB). Ta linia komórkowa została wygenerowana poprzez transdukcję pierwotnych ludzkich komórek śródbłonka mikronaczyniowego mózgu wektorem lentiwirusowym wyrażającym ludzką odwrotną transkryptazę telomerazy (hTERT), kluczowy enzym utrzymujący długość telomerów, a tym samym promujący długowieczność komórek bez przekształcania ich fenotypu. Wprowadzenie hTERT pomaga tym komórkom ominąć starzenie replikacyjne, które ogranicza żywotność komórek pierwotnych, umożliwiając trwałe rozmnażanie w hodowli.

Komórki HCMEC/D3 zachowują kluczowe fizjologiczne i morfologiczne cechy pierwotnych komórek śródbłonka mózgowego, co czyni je cennym modelem do badań in vitro BBB. Obejmują one ekspresję białek ścisłego połączenia, takich jak kładyna-5, okładyna i zonula occludens-1, które są krytyczne dla utrzymania integralności bariery. Komórki te wykazują również ekspresję różnych transporterów i receptorów typowych dla śródbłonka mózgowego, co wspiera ich wykorzystanie w badaniach związanych z dostarczaniem leków i zaburzeniami nerwowo-naczyniowymi. Zdolność HCMEC/D3 do tworzenia szczelnej monowarstwy o wysokiej oporności elektrycznej podkreśla ich przydatność do testów przepuszczalności BBB.

Badania wykorzystujące komórki HCMEC/D3 obejmują szeroki zakres zastosowań, w tym badanie patologii mózgu, takich jak udar, stwardnienie rozsiane i przerzuty raka do mózgu. Ich kompatybilność z różnymi technikami biologii molekularnej czyni je również doskonałym narzędziem do badania odpowiedzi komórek śródbłonka na bodźce zapalne, stres ścinający i substancje neurotoksyczne. Ta linia komórkowa zapewnia solidną, powtarzalną platformę do analizy zdarzeń molekularnych na poziomie śródbłonka mózgowego, przyczyniając się do cennego wglądu w złożoność zdrowia i choroby układu nerwowo-naczyniowego.

## Organism

Człowiek

## Tissue

Mózg, płat skroniowy, mikronaczynia krwionośne

## Disease

Normalne śródbłonek mikronaczyniowy mózgu (unieśmiertelniony za pomocą hTERT i SV40; model bariery krew-mózg; nie wywołujący nowotworów)

## Metastatic site

Nie dotyczy (normalna linia komórek śródbłonka mózgowego; nie jest to próbka nowotworowa)

## Applications

Badania nad barierą krew-mózg (BBB); neurozapalenie; dostarczanie leków do OUN i przepuszczalność; migracja przez śródbłonek; biologia połączeń ścisłych (kładyna-5, okładyna, ZO-1); modelowanie chorób neurologicznych; reakcje na naprężenie ścinające; badania neurotoksyczności

## Synonyms

HCMEC/D3, CMEC/D3, ludzkie komórki śródbłonka mikronaczyń korowych/D3

## Charakterystyka

## Age

Dorosły

## komórki hCMEC/D3 | 305024

**Gender** Kobieta**Ethnicity** Nie określono**Morphology** Śródbłonek**Cell type** Komórka śródbłonka**Growth properties** Adherent**Dane regulacyjne****Citation** hCMEC/D3 (numer katalogowy Cytion 305024)**Biosafety level** 1**NCBI\_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL\_U985**GMO Status** GMO-S1: Ta linia ludzkich komórek śródbłonka mikronaczyniowego (hCMEC/D3) zawiera konstrukty lentiwirusowe kodujące antygen SV40 T lub hTERT, wspomagające stabilną immortalizację. Wstawka jest zintegrowana z pierwotnymi komórkami śródbłonka. Ta klasyfikacja ma zastosowanie tylko w Niemczech i może różnić się w innych krajach.**Dane biomolekularne****Viruses** Transformant: Simian virus 40 (SV40)**Obsługa****Culture Medium** EGM -2 MV Microvascular Endothelial Cell Growth Medium-2 BulletKit (od Lonza, numer katalogowy Lonza CC-3202)**Supplements** Uzuppełnić dostarczoną pożywkę podstawową EBM-2 zgodnie z zaleceniami producenta**Dissociation Reagent** Accutase lub 0,25% roztwór trypsyny z EDTA (krótko; nie należy poddawać nadmiernej trypsynizacji)**Doubling time** ok. 24–36 godzin

**komórki hCMEC/D3 | 305024**

**Subculturing** Usunąć pożywkę, przepłukać roztworem PBS bez  $\text{Ca}^{2+}$ / $\text{Mg}^{2+}$ , dodać Accutase (3–5 min w temperaturze 37°C), zneutralizować kompletną pożywką, odwirować przy 300×g przez 5 min, ponownie wysiać w gęstości  $1-2 \times 10^4$  komórek/cm<sup>2</sup> do kolb pokrytych kolagenem.

**Split ratio** od 1 do 3

**Seeding density** 1 do  $2 \times 10^4$  komórek/cm<sup>2</sup> (na powierzchniach pokrytych kolagenem I)

**Fluid renewal** Co 1–2 dni

**Freeze medium** Jako pożywki do kriokonserwacji używamy 50% pożywki podstawowej + 40% FBS + 10% DMSO lub CM-1 (numer katalogowy Cytion 800100), która zawiera zoptymalizowane osmoprotektanty i stabilizatory metaboliczne w celu zwiększenia regeneracji i zmniejszenia stresu wywołanego kriokonserwacją.

**Thawing and Culturing Cells**

1. Upewnij się, że fiolka pozostaje głęboko zamrożona w momencie dostawy, ponieważ komórki są wysyłane w suchym lodzie, aby utrzymać optymalną temperaturę podczas transportu.
2. Po otrzymaniu należy natychmiast przechowywać fiolkę w temperaturze poniżej -150°C, aby zapewnić zachowanie integralności komórek, lub przejść do kroku 3, jeśli wymagana jest natychmiastowa hodowla.
3. W przypadku natychmiastowej hodowli należy szybko rozmrozić fiolkę, zanurzając ją w łaźni wodnej o temperaturze 37°C z czystą wodą i środkiem przeciwdrobnoustrojowym, delikatnie mieszając przez 40–60 sekund, aż pozostanie niewielka grudka lodu.
4. Wykonaj wszystkie kolejne kroki w sterylnych warunkach w kapturze przepływowej, dezynfekując fiolkę 70% etanolem przed otwarciem.
5. Ostrożnie otworzyć zdezynfekowaną fiolkę i przenieść zawiesinę komórek do 15 ml probówki wirówkowej zawierającej 8 ml podłoża hodowlanego o temperaturze pokojowej, delikatnie mieszając.
6. Wirować mieszaninę z prędkością 300 x g przez 3 minuty w celu oddzielenia komórek i ostrożnie odrzucić supernatant zawierający pozostałości pożywki do zamrażania.
7. Delikatnie ponownie zawiesić osad komórek w 10 ml świeżego podłoża hodowlanego. W przypadku komórek przylegających, rozdzielić zawiesinę pomiędzy dwie kolby hodowlane T25; w przypadku hodowli zawiesinowych, przenieść całą pożywkę do jednej kolby T25 w celu promowania skutecznej interakcji i wzrostu komórek.
8. Przestrzegaj ustalonych protokołów podhodowli w celu ciągłego wzrostu i utrzymania linii komórkowej, zapewniając wiarygodne wyniki eksperymentów.

## komórki hCMEC/D3 | 305024

**Incubation Atmosphere** 37°C, 5%<sub>CO2</sub>, nawilżona atmosfera.

**Flask Coating** Brak

**Freezing Procedure** Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiołki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

**Shipping Conditions** Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiołki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

**Storage Conditions** W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiołki w ciekłym azocie w fazie lotnej w temperaturze od -150 do -196 °C. Przechowywanie w temperaturze -80 °C jest dopuszczalne tylko jako krótki etap przejściowy przed przeniesieniem do ciekłego azotu.

## Kontrola jakości / Profil genetyczny / HLA

**Sterility** Zanieczyszczenie mykoplazmą jest wykluczane przy użyciu zarówno testów opartych na PCR, jak i metod wykrywania mykoplazmy opartych na luminescencji.

Aby upewnić się, że nie ma zanieczyszczenia bakteriami, grzybami lub drożdżami, hodowle komórkowe są poddawane codziennym kontrolom wizualnym.