

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

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

Charakterystyka

Age Dorosły

Gender Kobieta

Morphology Śródbłonek

Cell type Komórka śródbłonka

Growth properties Adherent

komórki hCMEC/D3 | 305024

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 śródbłonna mikronaczyniowego (hCMEC/D3) zawiera konstrukty lentiwirusowe kodujące antygen SV40 T lub hTERT, wspomagające stabilną immortalizację. Wstawka jest zintegrowana z pierwotnymi komórkami śródbłonna. 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	Uzupełnić dostarczoną pożywkę podstawową EBM-2 zgodnie z zaleceniami producenta
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.

komórki hCMEC/D3 | 305024**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 próbówki wirówkowej zawierającej 8 ml podłoża hodowlanego o temperaturze pokojowej, delikatnie mieszając.
6. Wirować mieszaninę z prędkością $300 \times g$ 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 zawieszonych, 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.

**Incubation
Atmosphere**

37°C , 5% CO_2 , 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 czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

komórki hCMEC/D3 | 305024

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.