

Bend.3 Cells | 305265**Informacje ogólne****Description**

Linia komórkowa Bend.3 wywodzi się z mysich komórek śródbłonna mózgu i jest szeroko wykorzystywana w badaniach nad układem nerwowo-naczyniowym. Komórki te służą jako model do badania bariery krew-mózg (BBB), krytycznej struktury, która reguluje przenikanie substancji z krwiobiegu do mózgu. Komórki Bend.3 odgrywają kluczową rolę w badaniu mechanizmów molekularnych i komórkowych regulujących integralność, przepuszczalność i funkcje transportowe BBB. Naukowcy wykorzystują komórki Bend.3 do badania patofizjologii różnych zaburzeń neurologicznych, takich jak udar, choroba Alzheimera i stwardnienie rozsiane, w których dysfunkcja BBB jest cechą charakterystyczną.

Komórki Bend.3 wykazują cechy śródbłonna, w tym ekspresję białek ścisłego połączenia, takich jak okludyna, kładyny i zonula occludens-1 (ZO-1), które są niezbędne do utrzymania selektywnej przepuszczalności BBB. Wyrażają również markery, takie jak CD31 i czynnik von Willebranda, typowe dla komórek śródbłonna. Komórki Bend.3 reagują na bodźce zapalne i stres oksydacyjny, dzięki czemu nadają się do badań nad zaburzeniami BBB i neurozapaleniem. Dodatkowo, ta linia komórkowa jest wykorzystywana do oceny skuteczności i bezpieczeństwa środków farmakologicznych przeznaczonych do przekraczania BBB, pomagając w rozwoju terapii zaburzeń ośrodkowego układu nerwowego. Użyteczność komórek Bend.3 w modelowaniu jednostki nerwowo-naczyniowej podkreśla ich znaczenie w pogłębianiu naszego zrozumienia biologii komórek śródbłonna mózgu i rozwoju neuroterapii.

Organism

Mysz

Tissue

Mózg, kora mózgowa

Disease

Śródbłoniak

Synonyms

bEND.3, b.End3, bEnd.3, bEnd3, BEND3, komórki śródbłonna pochodzenia mózgowego.3

Charakterystyka**Breed/Subspecies**

BALB/c

Age

6 tygodni

Gender

Nieokreślony

Morphology

Śródbłonek

Cell type

Komórka śródbłonna

Growth properties

Adherent

Bend.3 Cells | 305265**Dane regulacyjne**

Citation	Bend.3 (numer katalogowy Cytion 305265)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	10090
CellosaurusAccession	CVCL_0170
GMO Status	GMO-S1: Ta mysia linia komórek śródbłonna (bEnd.3) zawiera poliomawirusowy antygen środkowy T kodowany przez retrowirusowy wektor NTKmT, powodujący transformację i zwiększoną proliferację. Konstrukt jest stabilnie obecny w komórkach śródbłonna mikronaczyniowego mózgu. Ta klasyfikacja ma zastosowanie tylko w Niemczech i może różnić się w innych krajach.

Dane biomolekularne

Antigen expression	ICAM-1 +, VCAM-1 +, MAdCAM-1 +
Viruses	Transformant: Poliomawirus myszy (szczep A2) (MPyV) antygen środkowy T (PyMT)

Obsługa

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/l glukozy, w: 4 mM L-glutaminy, w: 3,7 g/l NaHCO ₃ , w: 1,0 mM pirogronianu sodu (numer artykułu Cytion 820300a)
Supplements	Uzupełnić podłoże 10% FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Usuń starą pożywkę z przylegających komórek i przemyj je PBS, który nie zawiera wapnia i magnezu. W przypadku kolb T25 należy użyć 3-5 ml PBS, a w przypadku kolb T75 5-10 ml. Następnie całkowicie pokryj komórki Accutase, używając 1-2 ml dla kolb T25 i 2,5 ml dla kolb T75. Pozwól komórkom inkubować w temperaturze pokojowej przez 8-10 minut, aby je oddzielić. Po inkubacji delikatnie wymieszaj komórki z 10 ml pożywki, aby ponownie je zawiesić, a następnie odwiruj przy 300xg przez 3 minuty. Odrzuć supernatant, ponownie zawiesić komórki w świeżej pożywce i przenieść je do nowych kolb zawierających już świeżą pożywkę.
Split ratio	Zalecany jest stosunek 1:4

Bend.3 Cells | 305265

Freeze medium

Jako pożywki do kriokonserwacji używamy kompletnej pożywki wzrostowej (w tym FBS) + 10% DMSO w celu zapewnienia odpowiedniej żywotności po rozmrożeniu 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 $300 \times g$ 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 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.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , nawilżona atmosfera.

Flask Coating

Brak

Bend.3 Cells | 305265

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 wykluczone 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.