

## células hCMEC/D3 | 305024

## Informações gerais

## Description

A linha celular HCMEC/D3 representa uma linha celular endotelial microvascular cerebral humana imortalizada, amplamente utilizada no estudo da barreira hemato-encefálica (BBB). Esta linha celular foi gerada através da transdução de células endoteliais microvasculares cerebrais humanas primárias com um vetor lentiviral que exprime a transcriptase reversa da telomerase humana (hTERT), uma enzima crucial para manter o comprimento dos telómeros e, assim, promover a longevidade celular sem transformar o fenótipo celular. A introdução da hTERT ajuda estas células a contornar a senescência replicativa que limita o tempo de vida das células primárias, permitindo a propagação sustentada em cultura.

As células HCMEC/D3 mantêm as principais características fisiológicas e morfológicas das células endoteliais cerebrais primárias, o que as torna um modelo valioso para estudos in vitro da BHE. Estas características incluem a expressão de proteínas de junção apertada, como a claudina-5, a ocludina e a zonula occludens-1, que são essenciais para manter a integridade da barreira. As células também expressam vários transportadores e receptores típicos do endotélio cerebral, apoiando a sua utilização em estudos relacionados com a administração de fármacos e doenças neurovasculares. A capacidade das HCMEC/D3 para formar uma monocamada apertada com elevada resistência eléctrica sublinha a sua adequação para ensaios de permeabilidade da BBB.

A investigação que utiliza células HCMEC/D3 abrangeu uma vasta gama de aplicações, incluindo a investigação de patologias cerebrais como o acidente vascular cerebral, a esclerose múltipla e as metástases de cancro no cérebro. A sua compatibilidade com várias técnicas de biologia molecular torna-as também uma excelente ferramenta para o estudo das respostas das células endoteliais a estímulos inflamatórios, tensão de cisalhamento e substâncias neurotóxicas. Esta linha celular fornece uma plataforma robusta e reprodutível para dissecar os eventos moleculares ao nível do endotélio cerebral, contribuindo com informações valiosas sobre as complexidades da saúde e da doença neurovascular.

**Organism** Humano

**Tissue** Cérebro, lobo temporal, microvaso sanguíneo

**Disease** Endotélio microvascular cerebral normal (imortalizado por hTERT e SV40; modelo da barreira hematoencefálica; não tumorigénico)

**Metastatic site** Não aplicável (linha celular endotelial cerebral normal; não se trata de uma amostra tumoral)

**Applications** Investigação sobre a barreira hematoencefálica (BHE); neuroinflamação; administração de fármacos no SNC e permeabilidade; migração transendotelial; biologia das junções apertadas (claudina-5, ocludina, ZO-1); modelação de doenças neurológicas; respostas ao esforço de cisalhamento; testes de neurotoxicidade

**Synonyms** HCMEC/D3, CMEC/D3, células endoteliais de microvasos corticais humanas/D3

## Caraterísticas

**Age** Adulto

## células hCMEC/D3 | 305024

**Gender** Feminino

**Ethnicity** Não especificado

**Morphology** Endotelial

**Cell type** Célula endotelial

**Growth properties** Aderente

## Dados regulamentares

**Citation** hCMEC/D3 (número de catálogo Cytion 305024)

**Biosafety level** 1

**NCBI\_TaxID** 9606

**CellosaurusAccession** CVCL\_U985

**GMO Status** GMO-S1: Esta linha de células endoteliais microvasculares humanas (hCMEC/D3) contém construções lentivirais que codificam o antígeno T do SV40 ou o hTERT, permitindo uma imortalização estável. A inserção é integrada em células endoteliais primárias. Esta classificação aplica-se apenas na Alemanha e pode ser diferente noutros países.

## Dados biomoleculares

**Víruses** Transformante: Vírus símio 40 (SV40)

## Manuseamento

**Culture Medium** EGM -2 MV Microvascular Endothelial Cell Growth Medium-2 BulletKit (da Lonza, número de catálogo Lonza CC-3202)

**Supplements** Suplementar o meio basal EBM-2 fornecido, conforme recomendado pelo fabricante

**Dissociation Reagent** Accutase ou tripsina-EDTA a 0,25% (brevemente; não submeter a tripsinização excessiva)

**Doubling time** aprox. 24 a 36 horas

**células hCMEC/D3 | 305024**

**Subculturing** Retirar o meio, lavar com PBS sem  $\text{Ca}^{2+}/\text{Mg}^{2+}$ , adicionar Accutase (3–5 min a 37 °C), neutralize com meio completo, centrifugue a 300×g durante 5 min e replante a uma densidade de  $1-2 \times 10^4$  células/cm<sup>2</sup> em frascos revestidos com colagénio.

**Split ratio** 1 a 3

**Seeding density**  $1 a 2 \times 10^4$  células/cm<sup>2</sup> (em superfícies revestidas com colagénio I)

**Fluid renewal** A cada 1 ou 2 dias

**Freeze medium** Como meio de criopreservação, utilizamos 50% de meio basal + 40% de FBS + 10% de DMSO, ou CM-1 (número de catálogo Cytion 800100), que inclui osmoprotectores otimizados e estabilizadores metabólicos para melhorar a recuperação e reduzir o stress induzido pela crio.

## células hCMEC/D3 | 305024

### Thawing and Culturing Cells

1. Confirme que o frasco permanece profundamente congelado aquando da entrega, uma vez que as células são enviadas em gelo seco para manter as temperaturas ideais durante o transporte.
2. Após a receção, armazenar o frasco criogénico imediatamente a temperaturas inferiores a  $-150^{\circ}\text{C}$  para garantir a preservação da integridade celular, ou avançar para o passo 3 se for necessária uma cultura imediata.
3. Para uma cultura imediata, descongelar rapidamente o frasco imergindo-o num banho de água a  $37^{\circ}\text{C}$  com água limpa e um agente antimicrobiano, agitando suavemente durante 40-60 segundos até ficar um pequeno aglomerado de gelo.
4. Efetuar todos os passos subsequentes em condições estéreis numa capela de fluxo, desinfectando o frasco criogénico com etanol a 70% antes de o abrir.
5. Abrir cuidadosamente o frasco desinfectado e transferir a suspensão de células para um tubo de centrifugação de 15 ml contendo 8 ml de meio de cultura à temperatura ambiente, misturando suavemente.
6. Centrifugar a mistura a  $300 \times g$  durante 3 minutos para separar as células e eliminar cuidadosamente o sobrenadante que contém o meio de congelação residual.
7. Ressuspender suavemente o pellet de células em 10 ml de meio de cultura fresco. No caso de células aderentes, dividir a suspensão entre dois frascos de cultura T25; no caso de culturas em suspensão, transferir todo o meio para um frasco T25 para promover uma interação e um crescimento eficazes das células.
8. Cumprir os protocolos de subcultura estabelecidos para o crescimento e manutenção contínuos da linha celular, garantindo resultados experimentais fiáveis.

### Incubation Atmosphere

$37^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , atmosfera humidificada.

### Flask Coating

Nenhum

### Freezing Procedure

As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente  $-78^{\circ}\text{C}$  durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

## células hCMEC/D3 | 305024

### Shipping Conditions

As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente -78 °C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

### Storage Conditions

Para conservação a longo prazo, colocar os frascos em azoto líquido em fase de vapor a uma temperatura entre -150 e -196 °C. O armazenamento a -80 °C é aceitável apenas como um curto passo intermédio antes da transferência para azoto líquido.

## Controlo de qualidade / Perfil genético / HLA

### Sterility

A contaminação por micoplasma é excluída utilizando ensaios baseados em PCR e métodos de deteção de micoplasma baseados em luminescência.

Para garantir que não há contaminação bacteriana, fúngica ou de leveduras, as culturas de células são sujeitas a inspecções visuais diárias.