

**Bend.3 Células | 305265****Informações gerais****Description**

A linha celular Bend.3 é derivada de células endoteliais do cérebro do rato e é amplamente utilizada na investigação neurovascular. Estas células servem de modelo para o estudo da barreira hemato-encefálica (BBB), uma estrutura crítica que regula a passagem de substâncias da corrente sanguínea para o cérebro. As células Bend.3 são fundamentais para explorar os mecanismos moleculares e celulares que regem a integridade, a permeabilidade e as funções de transporte da BHE. Os investigadores utilizam as células Bend.3 para investigar a fisiopatologia de várias doenças neurológicas, como o acidente vascular cerebral, a doença de Alzheimer e a esclerose múltipla, em que a disfunção da BHE é uma característica distintiva.

As células Bend.3 apresentam características endoteliais, incluindo a expressão de proteínas de junção apertada, como a ocludina, as claudinas e a zonula occludens-1 (ZO-1), que são essenciais para manter a permeabilidade selectiva da BHE. Também expressam marcadores como o CD31 e o fator de von Willebrand, típicos das células endoteliais. As células Bend.3 respondem a estímulos inflamatórios e ao stress oxidativo, o que as torna adequadas para estudos sobre a rutura da BHE e a neuroinflamação. Além disso, esta linha celular é utilizada para avaliar a eficácia e a segurança de agentes farmacológicos destinados a atravessar a BHE, ajudando no desenvolvimento de tratamentos para doenças do sistema nervoso central. A utilidade das células Bend.3 na modelação da unidade neurovascular sublinha a sua importância para o avanço da nossa compreensão da biologia das células endoteliais cerebrais e para o desenvolvimento de neuroterapêuticas.

**Organism**

Rato

**Tissue**

Cérebro, córtex cerebral

**Disease**

Endotelioma

**Synonyms**

bEND.3, b.End3, bEnd.3, bEnd3, BEND3, células endoteliais derivadas do cérebro.3

**Caraterísticas****Breed/Subspecies**

BALB/c

**Age**

6 semanas

**Gender**

Não especificado

**Morphology**

Endotelial

**Cell type**

Célula endotelial

**Growth properties**

Aderente

**Bend.3 Células | 305265****Dados regulamentares**

<b>Citation</b>	Bend.3 (número de catálogo Cytion 305265)
<b>Biosafety level</b>	1
<b>NCBI_TaxID</b>	10090
<b>CellosaurusAccession</b>	CVCL_0170
<b>GMO Status</b>	GMO-S1: Esta linha de células endoteliais murinas (bEnd.3) contém um antígeno T médio de poliomavírus codificado pelo vetor retroviral NTKmT, que promove a transformação e aumenta a proliferação. A construção está presente de forma estável em células endoteliais microvasculares cerebrais. Esta classificação aplica-se apenas na Alemanha e pode diferir noutros países.

**Dados biomoleculares**

<b>Antigen expression</b>	ICAM-1 +, VCAM-1 +, MAdCAM-1 +
<b>Viruses</b>	Transformante: Antígeno T médio do poliomavírus murino (estirpe A2) (MPyV) (PyMT)

**Manuseamento**

<b>Culture Medium</b>	DMEM, com: 4,5 g/L de glucose, com: 4 mM de L-Glutamina, com: 3,7 g/L de NaHCO <sub>3</sub> , com: 1,0 mM de piruvato de sódio (número de artigo Cytion 820300a)
<b>Supplements</b>	Completar o meio com 10% de FBS
<b>Dissociation Reagent</b>	Accutase
<b>Subculturing</b>	Retirar o meio antigo das células aderentes e lavá-las com PBS sem cálcio e magnésio. Nos frascos T25, utilizar 3-5 ml de PBS e, nos frascos T75, 5-10 ml. Em seguida, cobrir completamente as células com Accutase, utilizando 1-2 ml para os frascos T25 e 2,5 ml para os frascos T75. Deixar as células incubar à temperatura ambiente durante 8-10 minutos para as destacar. Após a incubação, misturar suavemente as células com 10 ml de meio para as ressuspender e, em seguida, centrifugar a 300xg durante 3 minutos. Deitar fora o sobrenadante, ressuspender as células em meio fresco e transferi-las para novos frascos que já contenham meio fresco.
<b>Split ratio</b>	Recomenda-se um rácio de 1:4

## Bend.3 Células | 305265

### Freeze medium

Como meio de criopreservação, utilizamos um meio de crescimento completo (incluindo FBS) + 10% DMSO para uma viabilidade pós-descongelamento adequada, 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.

### 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°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°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, desinfetando o frasco criogénico com etanol a 70% antes de o abrir.
5. Abrir cuidadosamente o frasco desinfetado 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 x 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°C, 5%  $\text{CO}_2$ , atmosfera humidificada.

### Flask Coating

Para uma fixação e viabilidade óptimas após a descongelação, recomendamos a utilização de **frascos ou placas revestidos com colagénio**.

## Bend.3 Células | 305265

### Freezing Procedure

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.

### 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.