

celule hCMEC/D3 | 305024

Informații generale

Description

Linia celulară HCMEC/D3 reprezintă o linie celulară endotelială microvasculară cerebrală umană imortalizată, utilizată pe scară largă în studiul barierei hematoencefalice (BBB). Această linie celulară a fost generată prin transducția celulelor endoteliale microvasculare cerebrale umane primare cu un vector lentiviral care exprimă transcriptaza inversă a telomerazei umane (hTERT), o enzimă esențială pentru menținerea lungimii telomerilor și, prin urmare, pentru promovarea longevității celulare fără transformarea fenotipului celular. Introducerea hTERT ajută aceste celule să ocolească senescența replicativă care limitează durata de viață a celulelor primare, permițând propagarea susținută în cultură.

Celulele HCMEC/D3 păstrează caracteristicile fiziologice și morfologice cheie ale celulelor endoteliale cerebrale primare, ceea ce le face un model valoros pentru studiile in vitro ale BHE. Acestea includ expresia proteinelor de jonctiune strânsă, cum ar fi claudina-5, occludina și zonula occludens-1, care sunt esențiale pentru menținerea integrității barierei. De asemenea, celulele exprimă diverși transportatori și receptori tipici endoteliului cerebral, ceea ce susține utilizarea lor în studiile legate de administrarea medicamentelor și de tulburările neurovasculare. Capacitatea HCMEC/D3 de a forma un monocel strâns cu o rezistență electrică ridicată subliniază adecvarea lor pentru testele de permeabilitate a BHE.

Cercetările care utilizează celulele HCMEC/D3 au acoperit o gamă largă de aplicații, inclusiv investigarea patologiilor cerebrale precum accidentul vascular cerebral, scleroza multiplă și metastazele cancerului la nivelul creierului. Compatibilitatea lor cu diverse tehnici de biologie moleculară le face, de asemenea, un instrument excelent pentru studierea răspunsurilor celulelor endoteliale la stimulii inflamatori, la stresul de forfecare și la substanțele neurotoxice. Această linie celulară oferă o platformă robustă și reproductibilă pentru disecarea evenimentelor moleculare de la nivelul endoteliului cerebral, contribuind cu informații valoroase la complexitatea sănătății și a bolilor neurovasculare.

Organism

Om

Tissue

Creier, lob temporal, microvase de sânge

Disease

Endoteliu microvascular cerebral normal (imortalizat cu hTERT și SV40; model de barieră hematoencefalică; netumorigene)

Metastatic site

Nu se aplică (linie celulară endotelială cerebrală normală; nu este o probă tumorală)

Applications

Cercetarea privind bariera hematoencefalică (BBB); neuroinflamația; administrarea medicamentelor în SNC și permeabilitatea; migrația transendotelială; biologia jonctiunilor strânse (claudină-5, occludină, ZO-1); modelarea bolilor neurologice; răspunsurile la efortul de forfecare; testarea neurotoxicității

Synonyms

HCMEC/D3, CMEC/D3, celule endoteliale ale microvaselor corticale umane/D3

Caracteristici

Age

Adult

celule hCMEC/D3 | 305024

Gender Femei**Ethnicity** Nu este specificat**Morphology** Endotelial**Cell type** Celulă endotelială**Growth properties** Aderent**Date de reglementare****Citation** hCMEC/D3 (număr de catalog Cytion 305024)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_U985**GMO Status** OMG-S1: Această linie de celule endoteliale microvasculare umane (hCMEC/D3) conține construcții lentivirale care codifică Antigenul SV40 T sau hTERT, susținând imortalizarea stabilă. Inserția este integrată în celulele endoteliale primare. Această clasificare se aplică numai în Germania și poate diferi în alte părți.**Date biomoleculare****Viruses** Transformant: virusul simian 40 (SV40)**Manipulare****Culture Medium** EGM -2 MV Microvascular Endothelial Cell Growth Medium-2 BulletKit (de la Lonza, numărul de catalog Lonza CC-3202)**Supplements** Completați mediul bazal EBM-2 furnizat conform recomandărilor producătorului**Dissociation Reagent** Accutase sau tripsină-EDTA 0,25% (pe scurt: nu se va efectua o tripsinizare excesivă)**Doubling time** aproximativ 24–36 de ore

celule hCMEC/D3 | 305024

Subculturing Se îndepărtează mediul, se spală cu PBS fără $\text{Ca}^{2+}/\text{Mg}^{2+}$, se adaugă Accutase (3–5 min la 37 °C), neutralizați cu mediu complet, centrifugați la 300×g timp de 5 min, repopulați la $1-2 \times 10^4$ celule/cm² în flacoane acoperite cu colagen.

Split ratio 1–3

Seeding density 1 până la 2×10^4 celule/cm² (pe suprafețe acoperite cu colagen I)

Fluid renewal O dată la 1-2 zile

Freeze medium Ca mediu de crioconservare, folosim 50% mediu bazal + 40% FBS + 10% DMSO sau CM-1 (număr de catalog Cytion 800100), care include osmoprotectanți optimizați și stabilizatori metabolici pentru a spori recuperarea și a reduce stresul indus de criogenie.

Thawing and Culturing Cells

1. Confirmați că flaconul rămâne profund înghețat la livrare, deoarece celulele sunt expediate pe gheață carbonică pentru a menține temperaturi optime în timpul transportului.
2. La primire, fie depozitați crioviola imediat la temperaturi sub -150 °C pentru a asigura păstrarea integrității celulare, fie treceți la etapa 3 dacă este necesară cultivarea imediată.
3. Pentru cultivarea imediată, dezghețați rapid flaconul prin scufundarea acestuia într-o baie de apă la 37 °C cu apă curată și un agent antimicrobian, agitându-l ușor timp de 40-60 de secunde până când rămâne o mică aglomerare de gheață.
4. Se efectuează toate etapele ulterioare în condiții sterile, într-o hotă cu flux, dezinfectând crioviola cu etanol 70% înainte de deschidere.
5. Se deschide cu grijă flaconul dezinfectat și se transferă suspensia celulară într-un tub de centrifugare de 15 ml care conține 8 ml de mediu de cultură la temperatura camerei, amestecând ușor.
6. Se centrifughează amestecul la 300 x g timp de 3 minute pentru a separa celulele și se aruncă cu grijă supernatantul care conține mediul de congelare rezidual.
7. Se resuspendă ușor peletul celular în 10 ml de mediu de cultură proaspăt. Pentru celulele aderente, împărțiți suspensia între două flacoane de cultură T25; pentru culturile în suspensie, transferați tot mediul într-un flacon T25 pentru a promova interacțiunea și creșterea celulară eficientă.
8. Respectați protocoalele de subcultură stabilite pentru creșterea și menținerea continuă a liniei celulare, asigurând rezultate experimentale fiabile.

celule hCMEC/D3 | 305024

Incubation Atmosphere 37°C, 5%_{CO2}, atmosferă umidificată.

Flask Coating Niciuna

Freezing Procedure Liniile celulare crioconservate sunt expediate pe gheață carbonică în ambalaje izolate, validate, cu suficient agent frigorific pentru a menține aproximativ -78 °C pe toată durata transportului. La primire, se inspectează imediat recipientul și se transferă fără întârziere fiolele în depozitul corespunzător.

Shipping Conditions Liniile celulare crioconservate sunt expediate pe gheață carbonică în ambalaje izolate, validate, cu suficient agent frigorific pentru a menține aproximativ -78 °C pe toată durata transportului. La primire, se inspectează imediat recipientul și se transferă fără întârziere fiolele în depozitul corespunzător.

Storage Conditions Pentru conservarea pe termen lung, flacoanele se plasează în azot lichid în fază de vapori la o temperatură cuprinsă între -150 și -196 °C. Păstrarea la -80 °C este acceptabilă doar ca o scurtă etapă intermediară înainte de transferul în azot lichid.

Controlul calității / Profil genetic / HLA

Sterility Contaminarea cu micoplasmă este exclusă utilizând atât teste bazate pe PCR, cât și metode de detectare a micoplasmei bazate pe luminescență.

Pentru a se asigura că nu există contaminare bacteriană, fungică sau de drojdie, culturile celulare sunt supuse unor inspecții vizuale zilnice.