

hCMEC/D3-celler | 305024

Allmän information

Description

HCMEC/D3-cellinjen representerar en odödliggjord human cerebral mikrovaskulär endotelcellinje, som används i stor utsträckning vid studier av blod-hjärnbarriären (BBB). Denna cellinje genererades genom transduktion av primära mänskliga cerebrala mikrovaskulära endotelceller med en lentiviral vektor som uttrycker humant telomeras omvänt transkriptas (hTERT), ett viktigt enzym för att bibehålla telomerlängden och därigenom främja cellens livslängd utan att förändra cellens fenotyp. Introduktionen av hTERT hjälper dessa celler att kringgå den replikativa senescens som begränsar livslängden hos primära celler, vilket möjliggör en långvarig förökning i odling.

HCMEC/D3-cellerna bibehåller viktiga fysiologiska och morfologiska egenskaper hos primära cerebrala endotelceller, vilket gör dem till en värdefull modell för in vitro-studier av BBB. Dessa inkluderar uttryck av tight junction-proteiner som claudin-5, occludin och zonula occludens-1, som är avgörande för att upprätthålla barriärens integritet. Cellerna uttrycker också olika transportörer och receptorer som är typiska för det cerebrala endotelet, vilket stöder deras användning i studier relaterade till läkemedelstillförsel och neurovaskulära störningar. HCMEC/D3:s förmåga att bilda ett tätt monolager med hög elektrisk resistans understryker deras lämplighet för BBB-permeabilitetsanalyser.

Forskning med HCMEC/D3-celler har omfattat ett brett spektrum av tillämpningar, inklusive undersökning av cerebrala patologier som stroke, multipel skleros och metastasering av cancer till hjärnan. Deras kompatibilitet med olika molekylärbiologiska tekniker gör dem också till ett utmärkt verktyg för att studera endotelcellers svar på inflammatoriska stimuli, skjuvstress och neurotoxiska ämnen. Denna cellinje utgör en robust, reproducerbar plattform för dissekering av molekylära händelser på cerebral endotelial nivå, vilket bidrar med värdefulla insikter om komplexiteten i neurovaskulär hälsa och sjukdom.

Organism

Människan

Tissue

Hjärna, tinninglob, blodmikroväska

Disease

Normalt mikrovaskulärt endotel i hjärnan (hTERT- och SV40-immortaliserat; blod-hjärnbarriärmodell; icke-tumörbildande)

Metastatic site

Ej tillämpligt (normal hjärnendotelcellinje; inte ett tumörprov)

Applications

Forskning om blod-hjärnbarriären (BBB); neuroinflammation; läkemedelsdistribution och permeabilitet i centrala nervsystemet; transendotelial migration; biologin bakom täta förbindelser (claudin-5, occludin, ZO-1); modellering av neurologiska sjukdomar; reaktioner på skjuvspänning; neurotoxicitetstestning

Synonyms

HCMEC/D3, CMEC/D3, endotelceller från mänskliga kortikala mikrokärl/D3

Egenskaper

Age

Vuxen

hCMEC/D3-celler | 305024

Gender Kvinna**Ethnicity** Ej specificerat**Morphology** Endotelial**Cell type** Endotelial cell**Growth properties** Följsam**Lagstadgade uppgifter****Citation** hCMEC/D3 (Cytion katalognummer 305024)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_U985**GMO Status** GMO-S1: Denna mänskliga mikrovaskulära endotelcellinje (hCMEC/D3) innehåller lentivirala konstruktioner som kodar för SV40 T-antigen eller hTERT, vilket stöder stabil immortalisering. Insatsen är integrerad i primära endotelceller. Denna klassificering gäller endast i Tyskland och kan skilja sig åt på andra håll.**Biomolekylära data****Viruses** Transformant: Simian virus 40 (SV40)**Hantering****Culture Medium** EGM -2 MV Microvascular Endothelial Cell Growth Medium-2 BulletKit (från Lonza, Lonza katalognummer CC-3202)**Supplements** Komplettera det medföljande EBM-2 Basal Medium enligt tillverkarens rekommendationer**Dissociation Reagent** Accutase eller 0,25 % trypsin-EDTA (kortvarig behandling; undvik överdriven trypsinering)**Doubling time** ca 24 till 36 timmar

hCMEC/D3-celler | 305024

Subculturing Avlägsna odlingsmediet, tvätta med PBS utan $\text{Ca}^{2+}/\text{Mg}^{2+}$, tillsätt Accutase (3–5 min vid 37 °C), neutralisera med komplett medium, centrifugera 300×g i 5 minuter, återutså $1\text{--}2 \times 10^4$ celler/cm² på kollagenbelagda kolvar.

Split ratio 1 till 3

Seeding density 1 till 2×10^4 celler/cm² (på ytor belagda med kollagen I)

Fluid renewal Var 1–2 dagar

Freeze medium Som kryokonserveringsmedium använder vi 50% basalt medium + 40% FBS + 10% DMSO, eller CM-1 (Cytion katalognummer 800100), som innehåller optimerade osmoprotektanter och metaboliska stabilisatorer för att förbättra återhämtningen och minska kryoinducerad stress.

Thawing and Culturing Cells

1. Bekräfta att flaskan är djupfryst vid leverans, eftersom cellerna skickas på torris för att bibehålla optimala temperaturer under transporten.
2. Vid mottagandet ska du antingen förvara kryovialen omedelbart vid temperaturer under -150 °C för att säkerställa att cellernas integritet bevaras, eller gå vidare till steg 3 om omedelbar odling krävs.
3. Vid omedelbar odling ska injektionsflaskan snabbt tinas genom att den sänks ned i ett 37 °C vattenbad med rent vatten och ett antimikrobiellt medel och omrörs försiktigt i 40–60 sekunder tills en liten isklump återstår.
4. Utför alla efterföljande steg under sterila förhållanden i en flödeshuv och desinficera kryovialerna med 70 % etanol innan de öppnas.
5. Öppna försiktigt den desinficerade flaskan och överför cellsuspensionen till ett 15 ml centrifugrör som innehåller 8 ml rumstempererat odlingsmedium och blanda försiktigt.
6. Centrifugera blandningen vid 300 x g i 3 minuter för att separera cellerna och kassera försiktigt supernatanten som innehåller resterande frysmedium.
7. Resuspendera försiktigt cellpelleten i 10 ml färskt odlingsmedium. För adherenta celler, fördela suspensionen mellan två T25-kulturkanter; för suspensionskulturer, överför allt medium till en T25-kolv för att främja effektiv cellinteraktion och tillväxt.
8. Följ fastställda subkulturprotokoll för fortsatt tillväxt och underhåll av cellinjen, vilket säkerställer tillförlitliga experimentella resultat.

hCMEC/D3-celler | 305024

Incubation Atmosphere 37°C, 5% CO_2 , befuktad atmosfär.

Flask Coating Ingen

Freezing Procedure Kryopreserverade cellinjer skickas på torris i validerade, isolerade förpackningar med tillräckligt med kylmedel för att hålla cirka -78 °C under hela transporten. Vid mottagandet ska behållaren omedelbart inspekteras och flaskorna utan dröjsmål överförs till lämplig förvaring.

Shipping Conditions Kryopreserverade cellinjer skickas på torris i validerade, isolerade förpackningar med tillräckligt med kylmedel för att hålla cirka -78 °C under hela transporten. Vid mottagandet ska behållaren omedelbart inspekteras och flaskorna utan dröjsmål överförs till lämplig förvaring.

Storage Conditions För långtidsförvaring, placera flaskorna i flytande kväve i ångfas vid ca -150 till -196 °C. Förvaring vid -80 °C är acceptabelt endast som ett kort mellanliggande steg innan överföring till flytande kväve.

Kvalitetskontroll / Genetisk profil / HLA

Sterility Mykoplasmakontaminering utesluts med hjälp av både PCR-baserade analyser och luminiscensbaserade metoder för mykoplasmadiagnostik.

För att säkerställa att det inte finns någon kontaminering av bakterier, svamp eller jäst utsätts cellkulturerna för dagliga visuella inspektioner.