

Böj.3 Celler | 305265**Allmän information****Description**

Bend.3-cellinjen härstammar från endotelceller i mushjärnan och används ofta inom neurovaskulär forskning. Dessa celler fungerar som en modell för att studera blod-hjärnbarriären (BBB), en kritisk struktur som reglerar passagen av ämnen från blodomloppet till hjärnan. Bend.3-celler är viktiga för att utforska de molekylära och cellulära mekanismer som styr BBB:s integritet, permeabilitet och transportfunktioner. Forskare använder Bend.3-celler för att undersöka patofysiologin vid olika neurologiska sjukdomar, som stroke, Alzheimers sjukdom och multipel skleros, där BBB-dysfunktion är ett kännetecken.

Bend.3-cellerna uppvisar endotelegenskaper, inklusive uttryck av tight junction-proteiner som occludin, claudin och zonula occludens-1 (ZO-1), vilka är nödvändiga för att upprätthålla den selektiva permeabiliteten i BBB. De uttrycker också markörer som CD31 och von Willebrand-faktor, som är typiska för endotelceller. Bend.3-cellerna reagerar på inflammatoriska stimuli och oxidativ stress, vilket gör dem lämpliga för studier av BBB-störningar och neuroinflammation. Dessutom används denna cellinje för att bedöma effekten och säkerheten hos farmakologiska medel som är avsedda att passera BBB, vilket underlättar utvecklingen av behandlingar för sjukdomar i centrala nervsystemet. Bend.3-cellernas användbarhet vid modellering av den neurovaskulära enheten understryker deras betydelse för att öka vår förståelse av hjärnans endotelcellsbiologi och utvecklingen av neuroterapeutiska läkemedel.

Organism

Mus

Tissue

Hjärna, cerebral cortex

Disease

Endoteliom

Synonyms

bEND.3, b.End3, bEnd.3, bEnd3, BEND3, hjärnderiverade endotelceller.3

Egenskaper**Breed/Subspecies**

BALB/c

Age

6 veckor

Gender

Ospecificerad

Morphology

Endotelial

Cell type

Endotelial cell

Growth properties

Följsam

Böj.3 Celler | 305265**Lagstadgade uppgifter**

Citation	Bend.3 (Cytion katalognummer 305265)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	10090
CellosaurusAccession	CVCL_0170
GMO Status	GMO-S1: Denna murina endotelcellinje (bEnd.3) innehåller ett polyomavirus middle T-antigen som kodas av den retrovirala vektorn NTKmT, vilket driver transformation och ökad proliferation. Konstruktionen är stabilt närvarande i hjärnans mikrovaskulära endotelceller. Denna klassificering gäller endast i Tyskland och kan skilja sig åt på andra håll.

Biomolekylära data

Antigen expression	ICAM-1 +, VCAM-1 +, MAdCAM-1 +
Viruses	Transformant: Murint polyomavirus (stam A2) (MPyV) medel-T-antigen (PyMT)

Hantering

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/L glukos, w: 4 mM L-glutamin, w: 3,7 g/L NaHCO ₃ , w: 1,0 mM natriumpyruvat (Cytion artikelnummer 820300a)
Supplements	Komplettera mediet med 10% FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Ta bort det gamla mediet från de adherenta cellerna och tvätta dem med PBS som saknar kalcium och magnesium. Använd 3-5 ml PBS för T25-kolvar och 5-10 ml för T75-kolvar. Täck sedan cellerna helt med Accutase, använd 1-2 ml för T25-kolvar och 2,5 ml för T75-kolvar. Låt cellerna inkubera i rumstemperatur i 8-10 minuter så att de lossnar. Efter inkubationen, blanda cellerna försiktigt med 10 ml medium för att resuspendera dem och centrifugera sedan vid 300xg i 3 minuter. Kassera supernatanten, resuspendera cellerna i färskt medium och överför dem till nya kolvar som redan innehåller färskt medium.
Split ratio	Ett förhållande på 1:4 rekommenderas

Böj.3 Celler | 305265

Freeze medium

Som kryokonserveringsmedium använder vi komplett tillväxtmedium (inklusive FBS) + 10% DMSO för adekvat viabilitet efter upptining, 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 $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ 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 $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ 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 flödeskuv 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 $300 \times g$ 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.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , befuktad atmosfär.

Flask Coating

För optimal vidhäftning och viabilitet efter upptining rekommenderar vi att **kollagenbelagda kolvar eller plattor** används.

Böj.3 Celler | 305265

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.