

bunky hCMEC/D3 | 305024**Všeobecné informácie****Description**

Bunková línia HCMEC/D3 predstavuje imortalizovanú líniu ľudských mozgových mikrovaskulárnych endotelových buniek, ktorá sa vo veľkej miere využíva pri štúdiu hematoencefalickej bariéry (BBB). Táto bunková línia bola vytvorená transdukciou primárnych ľudských cerebrálnych mikrovaskulárnych endotelových buniek lentivírusovým vektorom exprimujúcim ľudskú telomerázovú reverznú transkriptázu (hTERT), ktorá je kľúčovým enzýmom na udržanie dĺžky telomér, a tým podporuje bunkovú dlhovekosť bez transformácie bunkového fenotypu. Zavedenie hTERT pomáha týmto bunkám obísť replikačnú senescenciu, ktorá obmedzuje životnosť primárnych buniek, a umožňuje ich trvalé rozmnožovanie v kultúre.

Bunky HCMEC/D3 si zachovávajú kľúčové fyziologické a morfológické vlastnosti primárnych mozgových endotelových buniek, čo z nich robí cenný model pre in vitro štúdie BBB. Patrí medzi ne expresia proteínov tesného spojenia, ako sú kľaudín-5, okcludín a zonula occludens-1, ktoré sú rozhodujúce pre udržanie integrity bariéry. Bunky tiež exprimujú rôzne transportéry a receptory typické pre mozgový endotel, čo podporuje ich použitie v štúdiách týkajúcich sa dodávania liekov a neurovaskulárnych porúch. Schopnosť HCMEC/D3 vytvárať tesnú monovrstvu s vysokým elektrickým odporom zdôrazňuje ich vhodnosť na skúšky priepustnosti BBB.

Výskum využívajúci bunky HCMEC/D3 zahŕňa širokú škálu aplikácií vrátane skúmania mozgových patológií, ako je mozgová príhoda, skleróza multiplex a metastázy rakoviny do mozgu. Ich kompatibilita s rôznymi technikami molekulárnej biológie z nich tiež robí vynikajúci nástroj na štúdium reakcií endotelových buniek na zápalové podnety, strihový stres a neurotoxické látky. Táto bunková línia poskytuje robustnú, reprodukovateľnú platformu na rozbor molekulárnych udalostí na úrovni mozgového endotelu, čím prispieva k cenným poznatkom o zložitosti neurovaskulárneho zdravia a ochorení.

Organism

Ľudské

Tissue

Mozog, spánkový lalok, krvné mikrozávity

Synonyms

HCMEC/D3, CMEC/D3, ľudské kortikálne mikrovezikulárne endotelové bunky/D3

Charakteristika**Age**

Dospelí

Gender

Ženy

Morphology

Endotel

Cell type

Endotelová bunka

Growth properties

Adherent

Regulačné údaje

bunky hCMEC/D3 | 305024

Citation	hCMEC/D3 (katalógové číslo Cytion 305024)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_U985
GMO Status	GMO-S1: Táto línia ľudských mikrovaskulárnych endotelových buniek (hCMEC/D3) obsahuje lentivírusové konštrukty kódujúce SV40 T-Antigen alebo hTERT, ktoré podporujú stabilnú imortalizáciu. Vložka je integrovaná do primárnych endotelových buniek. Táto klasifikácia platí len v Nemecku a môže sa líšiť v iných krajinách.

Biomolekulárne údaje

Viruses	Transformant: Simian virus 40 (SV40)
----------------	--------------------------------------

Spracovanie

Culture Medium	EGM -2 MV Microvascular Endothelial Growth Medium-2 BulletKit (od spoločnosti Lonza, katalógové číslo CC-3202)
Supplements	Doplňte dodané základné médium EBM-2 podľa odporúčania výrobcu
Freeze medium	Ako kryokonzervačné médium používame 50 % bazálne médium + 40 % FBS + 10 % DMSO alebo CM-1 (katalógové číslo Cytion 800100), ktoré obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory na zlepšenie regenerácie a zníženie stresu spôsobeného kryom.

bunky hCMEC/D3 | 305024

Thawing and Culturing Cells

1. Overte si, že injekčná liekovka zostane pri doručení hlboko zmrazená, pretože bunky sa prepravujú na suchom ľade, aby sa počas prepravy udržala optimálna teplota.
2. Po prijatí buď okamžite uskladnite kryovialku pri teplote nižšej ako -150 °C, aby ste zabezpečili zachovanie bunkovej integrity, alebo prejdite na krok 3, ak je potrebná okamžitá kultivácia.
3. V prípade okamžitej kultivácie injekčnú liekovku rýchlo rozmrazte ponorením do vodného kúpeľa s teplotou 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálnym prostriedkom, pričom ju jemne miešajte 40 - 60 sekúnd, kým nezostane malý ľadový chumáč.
4. Všetky ďalšie kroky vykonajte v sterilných podmienkach v prietokovom digestore a pred otvorením kryovialku dezinfikujte 70 % etanolom.
5. Opatrne otvorte dezinfikovanú fľaštičku a preneste bunkovú suspenziu do 15 ml centrifugačnej skúmavky obsahujúcej 8 ml kultivačného média s izbovou teplotou a jemne premiešajte.
6. Zmes odstreďujte pri 300 x g počas 3 minút, aby sa bunky oddelili, a opatrne zlikvidujte supernatant obsahujúci zvyšky zmrazovacieho média.
7. Pelet buniek jemne resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačného média. V prípade adherentných buniek rozdeľte suspenziu medzi dve kultivačné banky T25; v prípade suspenzných kultúr preneste všetko médium do jednej banky T25, aby ste podporili účinnú interakciu a rast buniek.
8. Dodržiavajte zavedené subkultivačné protokoly na nepretržitý rast a udržiavanie bunkovej línie, čím sa zabezpečia spoľahlivé výsledky experimentov.

Incubation Atmosphere

37 °C, 5 % CO_2 , zvlhčená atmosféra.

Flask Coating

Na dosiahnutie optimálneho uchytenia a životaschopnosti po rozmrazení odporúčame používať **banky alebo platne s kolagénom**.

Freezing Procedure

Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne -78 °C počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

bunky hCMEC/D3 | 305024

Shipping Conditions

Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne -78 °C počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

Storage Conditions

Na dlhodobé uchovávanie umiestnite injekčné liekovky do kvapalnej fázy dusíka v pare pri teplote približne -150 až -196 °C. Skladovanie pri teplote -80 °C je prijateľné len ako krátky prechodný krok pred presunom do tekutého dusíka.

Kontrola kvality / Genetický profil / HLA

Sterility

Kontaminácia mykoplazmami sa vylučuje pomocou testov založených na PCR a metód detekcie mykoplazmiem založených na luminiscencii.

Aby sa zabezpečilo, že nedošlo ku kontaminácii baktériami, hubami alebo kvasinkami, bunkové kultúry sa denne vizuálne kontrolujú.