

## celice hCMEC/D3 | 305024

## Splošne informacije

## Description

Celična linija HCMEC/D3 je imortalizirana človeška cerebralna mikrovaskularna endotelijska celična linija, ki se pogosto uporablja pri preučevanju krvno-možganske pregrade (BBB). Ta celična linija je bila ustvarjena s transdukcijo primarnih človeških cerebralnih mikrovaskularnih endotelijskih celic z lentivirusnim vektorjem, ki izraža človeško telomerazno reverzno transkriptazo (hTERT), ključni encim za ohranjanje dolžine telomer in s tem spodbuja celično dolgoživost brez preoblikovanja celičnega fenotipa. Uvedba hTERT pomaga tem celicam zaobiti replikativno senescenco, ki omejuje življenjsko dobo primarnih celic, kar omogoča trajno razmnoževanje v kulturi.

Celice HCMEC/D3 ohranijo ključne fiziološke in morfološke značilnosti primarnih možganskih endotelijskih celic, zaradi česar so dragocen model za in vitro študije BBB. Mednje sodi izražanje proteinov tesnega spoja, kot so claudin-5, occludin in zonula occludens-1, ki so ključni za ohranjanje celovitosti pregrade. Celice izražajo tudi različne prenašalce in receptorje, značilne za možganski endotelij, kar podpira njihovo uporabo v študijah, povezanih z dostavo zdravil in nevrovaskularnimi motnjami. Sposobnost HCMEC/D3, da tvorijo tesen monosloj z visoko električno upornostjo, poudarja njihovo primernost za preskuse prepustnosti BBB.

Raziskave, ki uporabljajo celice HCMEC/D3, zajemajo širok spekter aplikacij, vključno z raziskovanjem možganskih patologij, kot so možganska kap, multipla skleroza in metastaziranje raka v možgane. Zaradi združljivosti z različnimi tehnikami molekularne biologije so tudi odlično orodje za preučevanje odzivov endotelijskih celic na vnetne dražljaje, strižni stres in nevrotoksične snovi. Ta celična linija zagotavlja zanesljivo in ponovljivo platformo za raziskovanje molekularnih dogodkov na ravni možganskega endotelija, kar prispeva k dragocenim vpogledom v kompleksnost nevrovaskularnega zdravja in bolezni.

## Organism

Človek

## Tissue

Možgani, temporalni lobus, krvni mikrosesel

## Synonyms

HCMEC/D3, CMEC/D3, endotelne celice človeških kortikalnih mikroseselov/D3

## Značilnosti

## Age

Odrasli

## Gender

Ženske

## Morphology

Endotelijski

## Cell type

Endotelijska celica

## Growth properties

Pripadajoče

## Regulativni podatki

## celice hCMEC/D3 | 305024

<b>Citation</b>	hCMEC/D3 (kataloška številka Cytion 305024)
<b>Biosafety level</b>	1
<b>NCBI_TaxID</b>	9606
<b>CellosaurusAccession</b>	CVCL_U985
<b>GMO Status</b>	GSO-S1: Ta linija človeških mikrovaskularnih endotelijskih celic (hCMEC/D3) vsebuje lentivirusne konstrukte, ki kodirajo SV40 T-Antigen ali hTERT, kar podpira stabilno imortalizacijo. Vstavek je integriran v primarne endotelijske celice. Ta razvrstitev velja samo v Nemčiji in se lahko drugje razlikuje.

## Biomolekularni podatki

<b>Viruses</b>	Transformant: Simijanski virus 40 (SV40)
----------------	--

## Ravnanje s spletno stranjo

<b>Culture Medium</b>	EGM -2 MV Microvascular Endothelial Cell Growth Medium-2 BulletKit (iz Lonze, kataloška številka Lonza CC-3202)
<b>Supplements</b>	Dodano bazično gojišče EBM-2 dopolnite, kot priporoča proizvajalec
<b>Freeze medium</b>	Kot gojišče za kriokonzervacijo uporabljamo 50 % osnovno gojišče + 40 % FBS + 10 % DMSO ali CM-1 (kataloška številka Cytion 800100), ki vsebuje optimizirane osmoprotektante in presnovne stabilizatorje za izboljšanje okrevanja in zmanjšanje stresa, ki ga povzroča krio.

### celice hCMEC/D3 | 305024

#### Thawing and Culturing Cells

1. Prepričajte se, da je viala ob dostavi globoko zamrznjena, saj se celice pošiljajo na suhem ledu, da se med prevozom ohranijo optimalne temperature.
2. Po prejemu krioviala takoj shranite pri temperaturi pod  $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ , da zagotovite ohranitev celične celovitosti, ali pa nadaljujte s korakom 3, če je potrebno takojšnje gojenje.
3. Za takojšnje gojenje vialo hitro odtalite tako, da jo potopite v vodno kopel s čisto vodo in protimikrobnim sredstvom pri  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$  ter 40-60 sekund nežno mešate, dokler ne ostane majhen ledeni kepica.
4. Vse nadaljnje korake izvajajte v sterilnih pogojih v pretočni nape, pred odprtjem pa kriovial razkužite s 70 % etanolom.
5. Previdno odprite razkuženo vialo in celično suspenzijo prenesite v 15-mililitrsko centrifugirno epruveto, ki vsebuje 8 ml gojišča sobne temperature, ter nežno premešajte.
6. Mešanico centrifugirajte pri  $300 \times g$  3 minute, da ločite celice, in previdno zavržite supernatant, ki vsebuje ostanke zamrzovalnega gojišča.
7. Pelet celic nežno ponovno suspendirajte v 10 ml svežega gojišča. Pri adherentnih celicah suspenzijo razdelite med dve bučki T25; pri suspenzijskih kulturah prenesite vse gojišče v eno bučko T25, da spodbudite učinkovito interakcijo in rast celic.
8. Upoštevajte uveljavljene protokole subkultur za nadaljnjo rast in vzdrževanje celične linije ter tako zagotovite zanesljive rezultate poskusov.

#### Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$ , 5 %  $\text{CO}_2$ , vlažno ozračje.

#### Flask Coating

Za optimalno pritrnitev in sposobnost preživetja po odmrznitvi priporočamo uporabo s **kolagenom prevlečenih bučk ali plošč**.

#### Freezing Procedure

Kriokonzervirane celične linije se pošiljajo na suhem ledu v potrjeni, izolirani embalaži z zadostno količino hladilnega sredstva, da se med prevozom vzdržuje približno  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Ob prejemu takoj preglejte embalažo in vialo nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.

**celice hCMEC/D3 | 305024**

**Shipping  
Conditions**

Kriokonzervirane celične linije se pošiljajo na suhem ledu v potrjeni, izolirani embalaži z zadostno količino hladilnega sredstva, da se med prevozom vzdržuje približno -78 °C. Ob prejemu takoj preglejte embalažo in vialo nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.

**Storage  
Conditions**

Za dolgotrajno shranjevanje vialo postavite v tekoči dušik v parni fazi pri približno -150 do -196 °C. Shranjevanje pri -80 °C je sprejemljivo le kot kratek vmesni korak pred prenosom v tekoči dušik.

**Nadzor kakovosti / Genetski profil / HLA**

**Sterility**

Kontaminacija z mikoplazmo se izključi z uporabo testov na podlagi PCR in metod za odkrivanje mikoplazme na podlagi luminiscence.

Da se zagotovi, da ni kontaminacije z bakterijami, glivami ali kvasovkami, se celične kulture dnevno vizualno pregledujejo.