

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 spodbujanje celične dolgoživosti 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 mikrovessel

Disease

Normalni endotel možganskih mikrovaskul (imortaliziran s hTERT in SV40; model krvno-možganske pregrade; netumorigeničen)

Metastatic site

Ne velja (normalna linija možganskih endotelijskih celic; ne gre za vzorec tumorja)

Applications

Raziskave krvno-možganske pregrade (BBB); nevrovnetje; dostava zdravil v centralni živčni sistem in prepustnost; transendotelijska migracija; biologija tesnih spojev (klaudin-5, occludin, ZO-1); modeliranje nevroloških bolezni; odzivi na strižno napetost; testiranje nevrotoksičnosti

Synonyms

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

Značilnosti

Age

Odrasli

Gender

Ženske

celice hCMEC/D3 | 305024

Ethnicity Ni določeno**Morphology** Endotelijski**Cell type** Endotelijska celica**Growth properties** Pripadajoče**Regulativni podatki****Citation** hCMEC/D3 (kataloška številka Cytion 305024)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_U985**GMO Status** 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****Viruses** Transformant: Simijanski virus 40 (SV40)**Ravnanje s spletno stranjo****Culture Medium** EGM -2 MV Microvascular Endothelial Cell Growth Medium-2 BulletKit (iz Lonze, kataloška številka Lonza CC-3202)**Supplements** Dodano bazično gojišče EBM-2 dopolnite, kot priporoča proizvajalec**Dissociation Reagent** Accutase ali 0,25 % tripsin-EDTA (na kratko; ne pretiravajte s tripsinizacijo)**Doubling time** približno 24 do 36 ur

celice hCMEC/D3 | 305024

Subculturing Odstranite gojišče, sperite s PBS brez $\text{Ca}^{2+}/\text{Mg}^{2+}$, dodajte Accutase (3–5 min pri 37 °C), nevtralizirajte s popolnim gojiščem, centrifugirajte pri 300×g 5 min, ponovno posejte z gostoto $1-2 \times 10^4$ celic/cm² v kolagenom prevlečene kolbe.

Split ratio 1 do 3

Seeding density $1 \text{ do } 2 \times 10^4$ celic/cm² (na površinah, prevlečenih s kolagenom I)

Fluid renewal Vsak 1 do 2 dni

Freeze medium Kot gojišče za kriokonzervacijo uporabljamo 50 % osnovno gojišče + 40 % FBS + 10 % DMSO ali CM-1 (katalogska številka Cytion 800100), ki vsebuje optimizirane osmoprotektante in presnovne stabilizatorje za izboljšanje okrevanja in zmanjšanje stresa, ki ga povzroča krio.

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 kriovial takoj shranite pri temperaturi pod -150 °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 °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 x 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.

celice hCMEC/D3 | 305024

Incubation Atmosphere 37 °C, 5 %_{CO2}, vlažno ozračje.

Flask Coating Nič

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 °C. Ob prejemu takoj preglejte embalažo in vialo nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.

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.