

hCMEC/D3 Hücreleri | 305024

Genel bilgi

Description

HCMEC/D3 hücre hattı, kan-beyin bariyeri (BBB) çalışmalarında yaygın olarak kullanılan ölümsüzleştirilmiş bir insan serebral mikrovasküler endotel hücre hattını temsil etmektedir. Bu hücre hattı, birincil insan serebral mikrovasküler endotel hücrelerinin, telomer uzunluğunu korumak ve böylece hücre fenotipini dönüştürmeden hücre uzun ömürlülüğü teşvik etmek için çok önemli bir enzim olan insan telomerez ters transkriptazını (hTERT) ifade eden bir lentiviral vektör ile transdüksiyonu yoluyla üretilmiştir. hTERT'in eklenmesi, bu hücrelerin birincil hücrelerin ömrünü sınırlayan replikatif yaşlanmayı atlamasına yardımcı olarak kültürde sürekli çoğalmaya izin verir.

HCMEC/D3 hücreleri, birincil serebral endotel hücrelerinin temel fizyolojik ve morfolojik özelliklerini koruyarak onları BBB'nin in vitro çalışmaları için değerli bir model haline getirmektedir. Bunlar arasında claudin-5, occludin ve zonula occludens-1 gibi bariyer bütünlüğünü korumak için kritik olan sıkı bağlantı proteinlerinin ifadesi yer alır. Hücreler ayrıca serebral endotele özgü çeşitli taşıyıcıları ve reseptörleri ifade ederek ilaç dağıtımı ve nörovasküler bozukluklarla ilgili çalışmalarda kullanımlarını desteklemektedir. HCMEC/D3'ün yüksek elektrik direncine sahip sıkı bir tek tabaka oluşturma kabiliyeti, BBB geçirgenlik deneyleri için uygunluklarının altını çizmektedir.

HCMEC/D3 hücrelerinin kullanıldığı araştırmalar, inme, multipl skleroz ve kanserin beyne metastazı gibi serebral patolojilerin araştırılması da dahil olmak üzere geniş bir uygulama yelpazesini kapsamaktadır. Çeşitli moleküler biyoloji teknikleriyle uyumlulukları da onları enflamatuar uyarılara, kesme stresine ve nörotoksik maddelere karşı endotel hücre tepkilerini incelemek için mükemmel bir araç haline getirmektedir. Bu hücre hattı, serebral endotel düzeyindeki moleküler olayları incelemek için sağlam ve tekrarlanabilir bir platform sağlayarak nörovasküler sağlık ve hastalığın karmaşıklıklarına ilişkin değerli içgörülere katkıda bulunur.

Organism

İnsan

Tissue

Beyin, temporal lob, kan mikrodamarı

Disease

Normal serebral mikrovasküler endotel (hTERT ve SV40 ile ölümsüzleştirilmiş; kan-beyin bariyeri modeli; tümör oluşurmeyen)

Metastatic site

Uygulanamaz (normal beyin endotel hücre hattı; tümör örneği değildir)

Applications

Kan-beyin bariyeri (BBB) araştırmaları; nöroinflamasyon; ilaçların merkezi sinir sistemine ulaşımı ve geçirgenliği; transendotelial göç; sıkı bağlantı biyolojisi (klaudin-5, okcludin, ZO-1); nörolojik hastalık modellemesi; kesme gerilimi tepkileri; nörotoksisite testleri

Synonyms

HCMEC/D3, CMEC/D3, insan Kortikal Mikrodamar Endotel Hücreleri/D3

Özellikler

Age

Yetişkin

Product sheet

hCMEC/D3 Hücreleri | 305024

Gender Kadın

Ethnicity Belirtilmemiş

Morphology Endotelial

Cell type Endotel hücre

Growth properties Yapışık

Düzenleyici Veriler

Citation hCMEC/D3 (Cytion katalog numarası 305024)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_U985

GMO Status GMO-S1: Bu insan mikrovasküler endotel hücre hattı (hCMEC/D3), stabil immortalizasyonu destekleyen SV40 T-Antigen veya hTERT kodlayan lentiviral yapılar içerir. Ek parça birincil endotel hücrelerine entegre edilmiştir. Bu sınıflandırma sadece Almanya içinde geçerlidir ve başka yerlerde farklılık gösterebilir.

Biyomoleküler Veriler

Viruses Transformant: Simian virüs 40 (SV40)

Elleçleme

Culture Medium EGM -2 MV Mikrovasküler Endotel Hücre Büyüme Ortamı-2 BulletKit (Lonza'dan, Lonza katalog numarası CC-3202)

Supplements Tedarik edilen EBM-2 Bazal Besiyerini üretici tarafından tavsiye edildiği şekilde tamamlayın

Dissociation Reagent Accutase veya %0,25 Trypsin-EDTA (kısa süreli; aşırı tripsinlemeye dikkat edin)

Doubling time yaklaşık 24 ila 36 saat

hCMEC/D3 Hücreleri | 305024

Subculturing Besiyerini boşaltın, Ca^{2+}/Mg^{2+} içermeyen PBS ile yıkayın, Accutase ekleyin (37°C'de 3-5 dakika), tam besiyeri ile nötralize edin, 300xg'de 5 dakika santrifüjleyin, kolajen kaplı şişelere $1-2 \times 10^4$ hücre/cm² yoğunluğunda yeniden ekleyin.

Split ratio 1'den 3'e kadar

Seeding density 1 ila 2×10^4 hücre/cm² (kollajen I ile kaplanmış yüzeylerde)

Fluid renewal Her 1 ila 2 günde bir

Freeze medium Kriyoprezervasyon ortamı olarak, iyileşmeyi artırmak ve kriyo kaynaklı stresi azaltmak için optimize edilmiş ozmoprotektanlar ve metabolik stabilizatörler içeren %50 bazal ortam + %40 FBS + %10 DMSO veya CM-1 (Cytion katalog numarası 800100) kullanıyoruz.

Thawing and Culturing Cells

1. Hücreler taşıma sırasında optimum sıcaklıkları korumak için kuru buz üzerinde gönderildiğinden, flakonun teslimat sırasında derin dondurulmuş halde kaldığını teyit edin.
2. Teslim aldıktan sonra, hücresel bütünlüğün korunmasını sağlamak için kriyovialı hemen -150°C'nin altındaki sıcaklıklarda saklayın veya hemen kültürleme gerekiyorsa 3. adıma geçin.
3. Derhal kültürleme için flakonu temiz su ve antimikrobiyal bir madde içeren 37°C'lik bir su banyosuna daldırıp küçük bir buz kümesi kalana kadar 40-60 saniye boyunca hafifçe çalkalayarak hızlıca çözün.
4. Sonraki tüm adımları steril koşullar altında bir akış başlığı içinde gerçekleştirin ve açmadan önce kriyoviyalleri %70 etanol ile dezenfekte edin.
5. Dezenfekte edilmiş flakonu dikkatlice açın ve hücre süspansiyonunu 8 ml oda sıcaklığında kültür ortamı içeren 15 ml'lik bir santrifüj tüpüne aktarın ve hafifçe karıştırın.
6. Hücreleri ayırmak için karışımı 300 x g'de 3 dakika santrifüjleyin ve artık dondurma ortamı içeren süpernatantı dikkatlice atın.
7. Hücre peletini 10 ml taze kültür ortamında yavaşça yeniden süspanse edin. Yapışık hücreler için, süspansiyonu iki T25 kültür şişesi arasında bölün; süspansiyon kültürleri için, etkili hücre etkileşimini ve büyümesini teşvik etmek üzere tüm ortamı tek bir T25 şişesine aktarın.
8. Hücre hattının sürekli büyümesi ve bakımı için belirlenmiş alt kültür protokollerine uyun ve güvenilir deneysel sonuçlar elde edin.

Product sheet

hCMEC/D3 Hücreleri | 305024

Incubation Atmosphere 37°C, %5_{CO2}, nemlendirilmiş atmosfer.

Flask Coating Yok

Freezing Procedure Kriyoprezerve edilmiş hücre hatları, nakliye boyunca yaklaşık -78 °C'yi korumak için yeterli soğutucu akışkan içeren, onaylanmış, yalıtılmış ambalajlarda kuru buz üzerinde gönderilir. Teslim aldığınızda, kabı hemen inceleyin ve flakonları gecikmeden uygun depoya aktarın.

Shipping Conditions Kriyoprezerve edilmiş hücre hatları, nakliye boyunca yaklaşık -78 °C'yi korumak için yeterli soğutucu akışkan içeren, onaylanmış, yalıtılmış ambalajlarda kuru buz üzerinde gönderilir. Teslim aldığınızda, kabı hemen inceleyin ve flakonları gecikmeden uygun depoya aktarın.

Storage Conditions Uzun süreli muhafaza için flakonları yaklaşık -150 ila -196 °C'de buhar fazlı sıvı nitrojen içine yerleştirin. 80 °C'de saklama yalnızca sıvı nitrojene aktarılmadan önce kısa bir ara adım olarak kabul edilebilir.

Kalite kontrol / Genetik profil / HLA

Sterility Mikoplazma kontaminasyonu hem PCR tabanlı tahliller hem de lüminesans tabanlı mikoplazma tespit yöntemleri kullanılarak dışlanır.

Bakteriyel, fungal veya maya kontaminasyonu olmadığından emin olmak için hücre kültürleri günlük görsel incelemelere tabi tutulur.