

## клітини hCMEC/D3 | 305024

## Загальна інформація

## Description

Клітинна лінія hCMEC/D3 являє собою іморталізовану лінію ендотеліальних клітин мікросудин головного мозку людини, яка широко використовується у вивченні гематоенцефалічного бар'єру (ГЕБ). Ця клітинна лінія була отримана шляхом трансдукції первинних клітин ендотелію мікросудин головного мозку людини лентивірусним вектором, що експресує зворотну транскриптазу теломери людини (hTERT), важливий фермент для підтримання довжини теломер і, таким чином, сприяє довголіттю клітин без трансформації фенотипу клітин. Введення hTERT допомагає цим клітинам уникнути реплікативного старіння, яке обмежує тривалість життя первинних клітин, забезпечуючи їхнє тривале розмноження в культурі.

Клітини hCMEC/D3 зберігають ключові фізіологічні та морфологічні характеристики первинних ендотеліальних клітин головного мозку, що робить їх цінною моделлю для дослідження BBB in vitro. До них відноситься експресія білків щільних з'єднань, таких як claudin-5, occludin і zonula occludens-1, які є критично важливими для підтримання цілісності бар'єру. Клітини також експресують різні транспортери і рецептори, характерні для церебрального ендотелію, що підтримує їх використання в дослідженнях, пов'язаних з доставкою ліків і нервово-судинними розладами. Здатність hCMEC/D3 утворювати щільний моношар з високим електричним опором підкреслює їх придатність для аналізу проникності ГЕБ.

Дослідження з використанням клітин hCMEC/D3 охоплюють широкий спектр застосувань, включаючи вивчення церебральних патологій, таких як інсульт, розсіяний склероз і метастазування раку в мозок. Їх сумісність з різними методами молекулярної біології також робить їх чудовим інструментом для вивчення реакції ендотеліальних клітин на запальні стимули, напругу зсуву і нейротоксичні речовини. Ця клітинна лінія забезпечує надійну, відтворювану платформу для вивчення молекулярних подій на рівні ендотелію головного мозку, сприяючи цінному розумінню складнощів здоров'я і хвороби нервово-судинної системи.

**Organism** Людина

**Tissue** Мозок, скронева частка, кровоносна мікросудина

**Synonyms** hCMEC/D3, CMEC/D3, ендотеліальні клітини кортикальних мікросудин людини/D3

## Характеристики

**Age** Дорослий

**Gender** Жінка

**Morphology** Ендотеліальний

**Cell type** Ендотеліальна клітина

## клітини hCMES/D3 | 305024

**Growth properties**      Адепт

## Нормативні дані

**Citation**      hCMES/D3 (номер за каталогом Cytion 305024)

**Biosafety level**      1

**NCBI\_TaxID**      9606

**CellosaurusAccession**      CVCL\_U985

**GMO Status**      ГМО-S1: Ця лінія ендотеліальних клітин мікросудин людини (hCMES/D3) містить лентивірусні конструкції, що кодують Т-антиген SV40 або hTERT, підтримуючи стабільну іморталізацію. Вставка інтегрується в первинні ендотеліальні клітини. Ця класифікація застосовується лише в Німеччині і може відрізнятись в інших країнах.

## Біомолекулярні дані

**Viruses**      Трансформант: вірус сибірки 40 (SV40)

## Обробка

**Culture Medium**      EGM -2 MV Середовище для росту ендотеліальних клітин мікросудин-2 BulletKit (від Lonza, номер за каталогом Lonza CC-3202)

**Supplements**      Додайте до поживного середовища EBM-2 Basal Medium, що входить до комплекту постачання, відповідно до рекомендацій виробника

**Freeze medium**      Як середовище криоконсервування ми використовуємо 50% базальне середовище + 40% FBS + 10% ДМСО або CM-1 (номер за каталогом Cytion 800100), до складу якого входять оптимізовані осмопротектори та метаболічні стабілізатори для покращення відновлення та зменшення криоіндукованого стресу.

## клітини hCMC/D3 | 305024

**Thawing and  
Culturing Cells**

1. Переконайтеся, що віал залишається глибоко замороженим після доставки, оскільки клітини транспортуються на сухому льоду для підтримання оптимальної температури під час транспортування.
2. Після отримання негайно зберігайте криовіал при температурі нижче  $-150^{\circ}\text{C}$ , щоб забезпечити збереження клітинної цілісності, або перейдіть до кроку 3, якщо потрібне негайне культивування.
3. Для негайного культивування швидко розморозьте віал, зануривши його у водяну баню з чистою водою і антимікробним засобом при температурі  $37^{\circ}\text{C}$ , обережно перемішуючи протягом 40-60 секунд, поки не залишиться невелика крижана грудка.
4. Всі наступні кроки виконуйте в стерильних умовах у проточній витяжній шафі, дезінфікуючи криовіал 70% етанолом перед відкриттям.
5. Обережно відкрийте продезінфікований флакон і перенесіть клітинну суспензію в 15 мл центрифужну пробірку, що містить 8 мл культурального середовища кімнатної температури, обережно перемішуючи.
6. Відцентрифугуйте суміш при  $300 \times g$  протягом 3 хвилин, щоб відокремити клітини, і обережно викиньте надосадову рідину, що містить залишки заморожувального середовища.
7. Обережно ресуспендуйте осад клітин у 10 мл свіжого культурального середовища. Для адгезивних клітин розділіть суспензію між двома культуральними колбами T25; для суспензійних культур перенесіть все середовище в одну колбу T25, щоб сприяти ефективній взаємодії та росту клітин.
8. Дотримуйтеся встановлених протоколів субкультивування для продовження росту і підтримання клітинної лінії, забезпечуючи надійні результати експерименту.

**Incubation  
Atmosphere**

$37^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , волога атмосфера.

**Flask Coating**

Для оптимального прикріплення та життєздатності після розморожування ми рекомендуємо використовувати **колби або пластини з колагеновим покриттям**.

**Freezing  
Procedure**

Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевіреній ізольованій упаковці з достатньою кількістю холодоагенту для підтримання температури приблизно  $-78^{\circ}\text{C}$  під час транспортування. При отриманні негайно огляньте контейнер і негайно перемістіть віали у відповідне місце для зберігання.

## клітини hCMC/D3 | 305024

### Shipping Conditions

Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевірених ізольованих упаковці з достатньою кількістю холодоагенту для підтримання температури приблизно -78 °C під час транспортування. При отриманні негайно огляньте контейнер і негайно перемістіть віали у відповідне місце для зберігання.

### Storage Conditions

Для тривалого зберігання помістіть флакони в парофазний рідкий азот при температурі від -150 до -196 °C. Зберігання при -80 °C допустиме лише як короткий проміжний етап перед перенесенням у рідкий азот.

## Контроль якості / Генетичний профіль / HLA

### Sterility

Зараження мікоплазмою виключається за допомогою аналізів на основі ПЛР та люмінесцентних методів виявлення мікоплазми.

Щоб переконатися у відсутності бактеріального, грибового або дріжджового забруднення, клітинні культури піддаються щоденному візуальному контролю.