

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 ВВБ 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

Disease Нормальний ендотелій мікросудин головного мозку (імунізований hTERT та SV40; модель гематоенцефалічного бар'єру; непухлинний)

Metastatic site Не застосовується (лінія нормальних ендотеліальних клітин головного мозку; не є зразком пухлини)

Applications Дослідження гематоенцефалічного бар'єру (ГЕБ); нейрозапалення; доставка лікарських засобів до ЦНС та проникність; трансендотеліальна міграція; біологія щільних з'єднань (клаудин-5, оклюдин, ZO-1); моделювання неврологічних захворювань; реакції на зсувне напруження; тестування нейротоксичності

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

Характеристики

Age Дорослий

клітини hCMES/D3 | 305024

Gender	Жінка
Ethnicity	Не вказано
Morphology	Ендотеліальний
Cell type	Ендотеліальна клітина
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 кодуєть T-антиген SV40 або hTERT, підтримуючи стабільну іморталізацію. Вставка інтегрується в первинні ендотеліальні клітини. Ця класифікація застосовується лише в Німеччині і може відрізнятися 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
Dissociation Reagent	Accutase або 0,25 % трипсин-ЕДТА (коротко; не перетрипсинувати)

клітини hCMC/D3 | 305024

Doubling time приблизно від 24 до 36 годин

Subculturing Видалити середовище, промити PBS без $\text{Ca}^{2+}/\text{Mg}^{2+}$, додати Accutase (3–5 хв при 37 °C), нейтралізуйте повним середовищем, центрифугуйте при 300×g протягом 5 хв, пересійте з щільністю $1\text{--}2 \times 10^4$ клітин/см² у колби, покриті колагеном.

Split ratio від 1 до 3

Seeding density від 1 до 2×10^4 клітин/см² (на поверхнях, покритих колагеном I)

Fluid renewal Кожні 1–2 дні

Freeze medium Як середовище кріоконсервування 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 кріоіндукованого 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 кріовіал при температурі нижче -150°C , щоб забезпечити збереження клітинної цілісності, або перейдіть до кроку 3, якщо потрібне негайне культивування.
3. Для негайного культивування швидко розморозьте віал, зануливши його у водяну баню з чистою водою і антимікробним засобом при температурі 37°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 кріовіал 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°C, 5% CO_2 , волога атмосфера.**Flask Coating**

Ні

**Freezing
Procedure**

Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевірній ізольованій 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.

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.