

Células hCMEC/D3 | 305024

Información general

Description

La línea celular hCMEC/D3 es una línea de células endoteliales microvasculares cerebrales humanas inmortalizadas, ampliamente utilizada en el estudio de la barrera hematoencefálica (BHE). Esta línea celular se generó mediante la transducción de células endoteliales microvasculares cerebrales humanas primarias con un vector lentiviral que expresa la transcriptasa inversa de la telomerasa humana (hTERT), una enzima crucial para mantener la longitud de los telómeros y, por lo tanto, promover la longevidad celular sin transformar el fenotipo celular. La introducción de hTERT ayuda a estas células a eludir la senescencia replicativa que limita la vida útil de las células primarias, lo que permite su propagación sostenida en cultivo.

Las células hCMEC/D3 conservan características fisiológicas y morfológicas clave de las células endoteliales cerebrales primarias, lo que las convierte en un modelo valioso para estudios in vitro de la BHE. Entre ellas se incluye la expresión de proteínas de uniones estrechas, como la claudina-5, la ocludina y la zonula occludens-1, que son fundamentales para mantener la integridad de la barrera. Las células también expresan diversos transportadores y receptores típicos del endotelio cerebral, lo que respalda su uso en estudios relacionados con la administración de fármacos y los trastornos neurovasculares. La capacidad de las hCMEC/D3 para formar una monocapa compacta con alta resistencia eléctrica subraya su idoneidad para ensayos de permeabilidad de la BHE.

La investigación que utiliza las células hCMEC/D3 ha abarcado una amplia gama de aplicaciones, incluida la investigación de patologías cerebrales como el accidente cerebrovascular, la esclerosis múltiple y la metástasis del cáncer en el cerebro. Su compatibilidad con diversas técnicas de biología molecular también las convierte en una excelente herramienta para estudiar las respuestas de las células endoteliales a estímulos inflamatorios, tensión de cizallamiento y sustancias neurotóxicas. Esta línea celular ofrece una plataforma sólida y reproducible para analizar los eventos moleculares a nivel del endotelio cerebral, lo que aporta información valiosa sobre las complejidades de la salud y las enfermedades neurovasculares.

Organism Humano

Tissue Cerebro, lóbulo temporal, microvasos sanguíneos

Disease Endotelio microvascular cerebral normal (inmortalizado con hTERT y SV40; modelo de barrera hematoencefálica; no tumorigénico)

Metastatic site No aplicable (línea celular endotelial cerebral normal; no es una muestra tumoral)

Applications Investigación sobre la barrera hematoencefálica (BHE); neuroinflamación; administración de fármacos al SNC y permeabilidad; migración transendotelial; biología de las uniones estrechas (claudina-5, ocludina, ZO-1); modelización de enfermedades neurológicas; respuestas al esfuerzo de cizallamiento; pruebas de neurotoxicidad

Synonyms hCMEC/D3, CMEC/D3, células endoteliales de los microvasos corticales humanos/D3

Características

Células hCMEC/D3 | 305024

Age	Adulto
Gender	Mujer
Ethnicity	No especificado
Morphology	De tipo endotelial (pavimento)
Cell type	Célula endotelial
Growth properties	Adherente

Datos normativos

Citation	hCMEC/D3 (número de catálogo de Cytion 305024)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_U985
GMO Status	GMO-S1: Esta línea celular de células endoteliales microvasculares humanas (hCMEC/D3) contiene constructos lentivirales que codifican el antígeno T del SV40 o hTERT, lo que permite una inmortalización estable. El inserto está integrado en células endoteliales primarias. Esta clasificación se aplica únicamente en Alemania y puede variar en otros países.

Datos biomoleculares

Viruses	Transformante: Virus simio 40 (SV40)
----------------	--------------------------------------

Manejo

Culture Medium	EGM-2 MV: Medio de crecimiento para células endoteliales microvasculares-2 BulletKit (de Lonza, número de catálogo de Lonza CC-3202)
Supplements	Complemente el medio basal EBM-2 suministrado según las recomendaciones del fabricante
Dissociation Reagent	Accutase o tripsina-EDTA al 0,25 % (brevemente; no se debe tratar con tripsina en exceso)

Células hCMEC/D3 | 305024

Doubling time aprox. de 24 a 36 horas

Subculturing Retirar el medio, lavar con PBS sin $\text{Ca}^{2+}/\text{Mg}^{2+}$, agregar Accutase (3–5 min a 37 °C), neutralizar con medio completo, centrifugar a 300×g durante 5 minutos y volver a sembrar a una densidad de $1\text{--}2 \times 10^4$ células/cm² en frascos recubiertos de colágeno.

Split ratio 1 a 3

Seeding density De 1 a 2×10^4 células/cm² (en superficies recubiertas de colágeno I)

Fluid renewal Cada 1 o 2 días

Freeze medium Como medio de criopreservación, utilizamos un 50 % de medio basal + 40 % de FBS + 10 % de DMSO, o CM-1 (número de catálogo de Cytion 800100), que incluye osmoprotectores y estabilizadores metabólicos optimizados para mejorar la recuperación y reducir el estrés inducido por la criopreservación.

Células hCMEC/D3 | 305024

Thawing and Culturing Cells

1. Verifique que el vial se mantenga profundamente congelado al momento de la entrega, ya que las células se envían en hielo seco para mantener temperaturas óptimas durante el transporte.
2. Al recibirlo, almacene el criovial inmediatamente a temperaturas inferiores a $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ para garantizar la preservación de la integridad celular, o bien continúe con el paso 3 si se requiere un cultivo inmediato.
3. Para el cultivo inmediato, descongele rápidamente el vial sumergiéndolo en un baño de agua a $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ con agua limpia y un agente antimicrobiano, agitando suavemente durante 40 a 60 segundos hasta que quede un pequeño trozo de hielo.
4. Realice todos los pasos posteriores en condiciones estériles bajo una cabina de flujo laminar, desinfectando el criovial con etanol al 70 % antes de abrirlo.
5. Abra con cuidado el vial desinfectado y transfiera la suspensión celular a un tubo de centrifuga de 15 ml que contenga 8 ml de medio de cultivo a temperatura ambiente, mezclando suavemente.
6. Centrifugue la mezcla a $300 \times g$ durante 3 minutos para separar las células y deseche con cuidado el sobrenadante que contenga medio de congelación residual.
7. Resuspende suavemente el sedimento celular en 10 ml de medio de cultivo fresco. Para las células adherentes, divide la suspensión entre dos frascos de cultivo T25; para los cultivos en suspensión, transfiera todo el medio a un solo frasco T25 para promover una interacción y un crecimiento celular efectivos.
8. Siga los protocolos de subcultivo establecidos para el crecimiento y mantenimiento continuos de la línea celular, asegurando resultados experimentales confiables.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5 % de CO_2 , atmósfera humidificada.

Shipping Conditions

Las líneas celulares criopreservadas se envían en hielo seco, en un embalaje aislante validado que contiene suficiente refrigerante para mantener una temperatura de aproximadamente $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ durante todo el transporte. Al recibir el envío, revise el contenedor de inmediato y traslade los viales sin demora al lugar de almacenamiento adecuado.

Storage Conditions

Para la conservación a largo plazo, coloque los viales en nitrógeno líquido en fase de vapor a una temperatura de entre -150 y $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$, aproximadamente. El almacenamiento a $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ solo es aceptable como un paso intermedio breve antes de transferirlos al nitrógeno líquido.

Células hCMEC/D3 | 305024

Control de calidad y análisis molecular

Sterility

Se descarta la contaminación por micoplasmas mediante ensayos basados en PCR y métodos de detección de micoplasmas basados en luminiscencia.

Para garantizar que no haya contaminación bacteriana, fúngica o por levaduras, los cultivos celulares se someten a inspecciones visuales diarias.