

Cellules hCMEC/D3 | 305024**Renseignements généraux****Description**

La lignée cellulaire HCMEC/D3 est une lignée de cellules endothéliales microvasculaires cérébrales humaines immortalisées, largement utilisée dans l'étude de la barrière hémato-encéphalique (BHE). Cette lignée cellulaire a été générée par la transduction de cellules endothéliales microvasculaires cérébrales humaines primaires à l'aide d'un vecteur lentiviral exprimant la télomérase reverse transcriptase humaine (hTERT), une enzyme essentielle au maintien de la longueur des télomères et, par conséquent, à la promotion de la longévité cellulaire sans transformer le phénotype cellulaire. L'introduction de la hTERT permet à ces cellules de contourner la sénescence répllicative qui limite la durée de vie des cellules primaires, ce qui favorise leur propagation soutenue en culture.

Les cellules HCMEC/D3 conservent les principales caractéristiques physiologiques et morphologiques des cellules endothéliales cérébrales primaires, ce qui en fait un modèle précieux pour les études in vitro de la BHE. Parmi celles-ci figure l'expression de protéines des jonctions serrées telles que la claudine-5, l'occludine et la zonula occludens-1, qui sont essentielles au maintien de l'intégrité de la barrière. Ces cellules expriment également divers transporteurs et récepteurs typiques de l'endothélium cérébral, ce qui justifie leur utilisation dans des études liées à l'administration de médicaments et aux troubles neurovasculaires. La capacité des cellules HCMEC/D3 à former une monocouche compacte présentant une résistance électrique élevée souligne leur pertinence pour les tests de perméabilité de la BHE.

La recherche utilisant les cellules HCMEC/D3 a couvert un large éventail d'applications, notamment l'étude de pathologies cérébrales telles que l'AVC, la sclérose en plaques et les métastases cérébrales. Leur compatibilité avec diverses techniques de biologie moléculaire en fait également un excellent outil pour étudier les réponses des cellules endothéliales aux stimuli inflammatoires, à la contrainte de cisaillement et aux substances neurotoxiques. Cette lignée cellulaire offre une plateforme robuste et reproductible pour analyser les événements moléculaires au niveau de l'endothélium cérébral, apportant ainsi des informations précieuses sur les complexités de la santé et des maladies neurovasculaires.

Organism

Humain

Tissue

Cerveau, lobe temporal, microvaisseaux sanguins

Disease

Endothélium microvasculaire cérébral normal (immortalisé par hTERT et SV40; modèle de barrière hémato-encéphalique; non tumorigène)

Metastatic site

Sans objet (lignée cellulaire endothéliale cérébrale normale; il ne s'agit pas d'un échantillon tumoral)

Applications

Recherche sur la barrière hémato-encéphalique (BHE); neuroinflammation; administration de médicaments au SNC et perméabilité; migration transendothéliale; biologie des jonctions serrées (claudine-5, occludine, ZO-1); modélisation des maladies neurologiques; réponses aux contraintes de cisaillement; essais de neurotoxicité

Synonyms

HCMEC/D3, CMEC/D3, cellules endothéliales des microvaisseaux corticaux humains/D3

Caractéristiques

Cellules hCMEC/D3 | 305024

Age	Adulte
Gender	Femme
Ethnicity	Non précisé
Morphology	De type endothélial (en pavés)
Cell type	Cellule endothéliale
Growth properties	Adepte

Données réglementaires

Citation	hCMEC/D3 (numéro de catalogue Cytion 305024)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_U985
GMO Status	GMO-S1 : Cette lignée cellulaire endothéliale microvasculaire humaine (hCMEC/D3) contient des constructions lentivirales codant pour l'antigène T du SV40 ou pour le gène hTERT, ce qui permet une immortalisation stable. L'insert est intégré dans des cellules endothéliales primaires. Cette classification ne s'applique qu'en Allemagne et peut varier ailleurs.

Données biomoléculaires

Viruses	Transformant : virus simien 40 (SV40)
----------------	---------------------------------------

Manipulation

Culture Medium	EGM-2 MV – Milieu de culture pour cellules endothéliales microvasculaires – 2 BulletKit (de Lonza, numéro de catalogue Lonza CC-3202)
Supplements	Complétez le milieu de base EBM-2 fourni conformément aux recommandations du fabricant
Dissociation Reagent	Accutase ou trypsine-EDTA à 0,25 % (traitement bref; éviter une trypsinisation excessive)

Cellules hCMEC/D3 | 305024

Doubling time environ 24 à 36 heures

Subculturing Retirer le milieu, laver avec du PBS sans $\text{Ca}^{2+}/\text{Mg}^{2+}$, ajouter de l'Accutase (3 à 5 min à 37 °C), neutraliser avec du milieu complet, centrifuger à $300 \times g$ pendant 5 min, puis réensemencer à une densité de $1 \text{ à } 2 \times 10^4$ cellules/cm² dans des flacons recouverts de collagène.

Split ratio 1 à 3

Seeding density $1 \text{ à } 2 \times 10^4$ cellules/cm² (sur des surfaces recouvertes de collagène I)

Fluid renewal Tous les 1 à 2 jours

Freeze medium Comme milieu de cryoconservation, nous utilisons un mélange composé de 50 % de milieu de base + 40 % de FBS + 10 % de DMSO, ou du CM-1 (numéro de catalogue Cytion 800100), qui contient des osmoprotecteurs et des stabilisateurs métaboliques optimisés afin d'améliorer la récupération et de réduire le stress induit par la cryoconservation.

Cellules hCMEC/D3 | 305024

Thawing and Culturing Cells

1. Assurez-vous que le flacon reste bien congelé à la livraison, car les cellules sont expédiées sur de la glace sèche afin de maintenir des températures optimales pendant le transport.
2. À la réception, conservez immédiatement le cryofiole à une température inférieure à -150 °C pour garantir la préservation de l'intégrité cellulaire, ou passez à l'étape 3 si une culture immédiate est nécessaire.
3. Pour une culture immédiate, décongelez rapidement le flacon en l'immergeant dans un bain-marie à 37 °C contenant de l'eau propre et un agent antimicrobien, en agitant doucement pendant 40 à 60 secondes jusqu'à ce qu'il ne reste qu'un petit morceau de glace.
4. Effectuez toutes les étapes suivantes dans des conditions stériles sous une hotte à flux laminaire, en désinfectant le cryotube avec de l'éthanol à 70 % avant de l'ouvrir.
5. Ouvrez avec précaution le flacon désinfecté et transférez la suspension cellulaire dans un tube à centrifuger de 15 ml contenant 8 ml de milieu de culture à température ambiante, en mélangeant délicatement.
6. Centrifuger le mélange à $300 \times g$ pendant 3 minutes pour séparer les cellules, puis jeter avec précaution le surnageant contenant le milieu de congélation résiduel.
7. Remettre délicatement le culot cellulaire en suspension dans 10 ml de milieu de culture frais. Pour les cellules adhérentes, répartir la suspension dans deux flacons de culture T25; pour les cultures en suspension, transférer la totalité du milieu dans un seul flacon T25 afin de favoriser une interaction et une croissance cellulaires efficaces.
8. Respectez les protocoles de sous-culture établis pour assurer la croissance continue et le maintien de la lignée cellulaire, garantissant ainsi des résultats expérimentaux fiables.

Incubation Atmosphere

37 °C , 5 % de CO_2 , atmosphère humidifiée.

Shipping Conditions

Les lignées cellulaires cryoconservées sont expédiées dans de la glace sèche, dans un emballage isotherme validé contenant suffisamment de réfrigérant pour maintenir une température d'environ -78 °C pendant tout le transport. À la réception, inspectez immédiatement le conteneur et transférez sans délai les flacons dans un lieu de stockage approprié.

Storage Conditions

Pour une conservation à long terme, placez les flacons dans de l'azote liquide en phase vapeur à une température comprise entre environ -150 et -196 °C . L'entreposage à -80 °C n'est acceptable qu'à titre d'étape intermédiaire de courte durée avant le transfert dans l'azote liquide.

Contrôle de la qualité et analyse moléculaire

Sterility

La contamination par les mycoplasmes est exclue à l'aide de tests basés sur la PCR et de méthodes de détection des mycoplasmes par luminescence.

Afin de s'assurer qu'il n'y a aucune contamination bactérienne, fongique ou par des levures, les cultures cellulaires font l'objet d'inspections visuelles quotidiennes.