

Células hCMEC/D3 | 305024**Informações gerais****Description**

A linhagem celular HCMEC/D3 é uma linhagem de células endoteliais microvasculares cerebrais humanas imortalizadas, amplamente utilizada no estudo da barreira hematoencefálica (BBB). Essa linha celular foi gerada por meio da transdução de células endoteliais microvasculares cerebrais humanas primárias com um vetor lentiviral que expressa a transcriptase reversa da telomerase humana (hTERT), uma enzima crucial para a manutenção do comprimento dos telômeros e, conseqüentemente, para a promoção da longevidade celular sem transformar o fenótipo celular. A introdução da hTERT ajuda essas células a contornar a senescência replicativa que limita a vida útil das células primárias, permitindo a propagação sustentada em cultura.

As células HCMEC/D3 mantêm características fisiológicas e morfológicas essenciais das células endoteliais cerebrais primárias, tornando-as um modelo valioso para estudos in vitro da BHE. Entre elas estão a expressão de proteínas de junções apertadas, como claudina-5, ocludina e zonula occludens-1, que são fundamentais para a manutenção da integridade da barreira. As células também expressam vários transportadores e receptores típicos do endotélio cerebral, o que justifica seu uso em estudos relacionados à administração de medicamentos e distúrbios neurovasculares. A capacidade das células HCMEC/D3 de formar uma monocamada compacta com alta resistência elétrica ressalta sua adequação para ensaios de permeabilidade da BHE.

Pesquisas que utilizam células HCMEC/D3 abrangem uma ampla gama de aplicações, incluindo a investigação de patologias cerebrais, como acidente vascular cerebral, esclerose múltipla e metástase de câncer no cérebro. Sua compatibilidade com diversas técnicas de biologia molecular também as torna uma excelente ferramenta para o estudo das respostas das células endoteliais a estímulos inflamatórios, tensão de cisalhamento e substâncias neurotóxicas. Essa linhagem celular oferece uma plataforma robusta e reproduzível para a análise dos eventos moleculares no nível endotelial cerebral, contribuindo com insights valiosos sobre as complexidades da saúde e das doenças neurovasculares.

Organism

Humano

Tissue

Cérebro, lobo temporal, microvasos sanguíneos

Disease

Endotélio microvascular cerebral normal (imortalizado por hTERT e SV40; modelo de barreira hematoencefálica; não tumorigênico)

Metastatic site

Não aplicável (linha celular endotelial cerebral normal; não se trata de uma amostra tumoral)

Applications

Pesquisa sobre a barreira hematoencefálica (BHE); neuroinflamação; administração de medicamentos no SNC e permeabilidade; migração transendotelial; biologia das junções apertadas (claudina-5, ocludina, ZO-1); modelagem de doenças neurológicas; respostas ao esforço de cisalhamento; testes de neurotoxicidade

Synonyms

HCMEC/D3, CMEC/D3, células endoteliais de microvasos corticais humanos/D3

Características**Age**

Adulto

Células hCMEC/D3 | 305024**Gender** Mulher**Ethnicity** Não especificado**Morphology** Do tipo endotelial (pavimentado)**Cell type** Célula endotelial**Growth properties** Aderente**Dados regulatórios****Citation** hCMEC/D3 (número de catálogo da Cytion 305024)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_U985**GMO Status** GMO-S1: Esta linhagem de células endoteliais microvasculares humanas (hCMEC/D3) contém construções lentivirais que codificam o antígeno T do SV40 ou o hTERT, permitindo a imortalização estável. A inserção está integrada nas células endoteliais primárias. Esta classificação se aplica apenas na Alemanha e pode diferir em outros países.**Dados biomoleculares****Viruses** Transformante: Vírus simiano 40 (SV40)**Manuseio****Culture Medium** EGM-2 MV – Meio de Crescimento para Células Endoteliais Microvasculares-2 BulletKit (da Lonza, número de catálogo da Lonza CC-3202)**Supplements** Adicione os componentes ao meio basal EBM-2 fornecido, conforme recomendado pelo fabricante**Dissociation Reagent** Accutase ou tripsina-EDTA a 0,25% (brevemente; não deixar agir por tempo excessivo)**Doubling time** aproximadamente 24 a 36 horas

Células hCMEC/D3 | 305024

Subculturing Remova o meio, lave com PBS sem $\text{Ca}^{2+}/\text{Mg}^{2+}$, adicione Accutase (3–5 min a 37 °C), neutralize com meio completo, centrifugue a 300xg por 5 min e replante a uma densidade de $1-2 \times 10^4$ células/cm² em frascos revestidos com colágeno.

Split ratio 1 a 3

Seeding density $1 a 2 \times 10^4$ células/cm² (em superfícies revestidas com colágeno I)

Fluid renewal A cada 1 ou 2 dias

Freeze medium Como meio de criopreservação, utilizamos 50% de meio basal + 40% de FBS + 10% de DMSO, ou CM-1 (número de catálogo da Cytion 800100), que inclui osmoprotetores e estabilizadores metabólicos otimizados para melhorar a recuperação e reduzir o estresse induzido pela criopreservação.

Thawing and Culturing Cells

1. Verifique se o frasco permanece profundamente congelado no momento da entrega, pois as células são enviadas em gelo seco para manter as temperaturas ideais durante o transporte.
2. Após o recebimento, armazene o criovial imediatamente a temperaturas abaixo de -150 °C para garantir a preservação da integridade celular ou prossiga para a etapa 3, caso seja necessária a cultura imediata.
3. Para cultura imediata, descongele rapidamente o frasco imergindo-o em um banho-maria a 37 °C com água limpa e um agente antimicrobiano, agitando suavemente por 40 a 60 segundos até que reste apenas um pequeno pedaço de gelo.
4. Realize todas as etapas subsequentes em condições estéreis em uma cabine de fluxo, desinfetando o criovial com etanol a 70% antes de abri-lo.
5. Abra cuidadosamente o frasco desinfetado e transfira a suspensão celular para um tubo de centrifuga de 15 ml contendo 8 ml de meio de cultura à temperatura ambiente, misturando delicadamente.
6. Centrifugue a mistura a 300 x g por 3 minutos para separar as células e descarte cuidadosamente o sobrenadante contendo o meio de congelamento residual.
7. Ressuspender suavemente o sedimento celular em 10 ml de meio de cultura fresco. Para células aderentes, dividir a suspensão entre dois frascos de cultura T25; para culturas em suspensão, transferir todo o meio para um frasco T25 a fim de promover a interação e o crescimento celular eficazes.
8. Siga os protocolos de subcultura estabelecidos para o crescimento contínuo e a manutenção da linhagem celular, garantindo resultados experimentais confiáveis.

Células hCMEC/D3 | 305024

Incubation Atmosphere

37 °C, 5% de CO₂, atmosfera umidificada.

Shipping Conditions

As linhagens celulares criopreservadas são enviadas em gelo seco, em embalagens isoladas e validadas, com refrigerante suficiente para manter a temperatura em aproximadamente -78 °C durante todo o transporte. Ao receber a remessa, inspecione o recipiente imediatamente e transfira os frascos sem demora para o local de armazenamento adequado.

Storage Conditions

Para preservação a longo prazo, coloque os frascos em nitrogênio líquido em fase de vapor a uma temperatura entre aproximadamente -150 e -196 °C. O armazenamento a -80 °C é aceitável apenas como uma etapa intermediária de curta duração antes da transferência para o nitrogênio líquido.

Controle de Qualidade e Análise Molecular

Sterility

A contaminação por micoplasma é descartada por meio de ensaios baseados em PCR e de métodos de detecção de micoplasma baseados em luminescência.

Para garantir que não haja contaminação por bactérias, fungos ou leveduras, as culturas celulares são submetidas a inspeções visuais diárias.