

tế bào hCMEC/D3 | 305024

Thông tin chung

Description

Dòng tế bào hCMEC/D3 là một dòng tế bào nội mô mạch máu não người bất tử, được sử dụng rộng rãi trong nghiên cứu về hàng rào máu-não (BBB). Dòng tế bào này được tạo ra thông qua quá trình chuyển gen của các tế bào nội mô mạch máu não người nguyên phát bằng vectơ lentivirus biểu hiện enzym telomerase reverse transcriptase của người (hTERT), một enzym quan trọng trong việc duy trì độ dài telomere và do đó thúc đẩy tuổi thọ tế bào mà không làm thay đổi biểu hiện kiểu hình của tế bào. Việc giới thiệu hTERT giúp các tế bào này vượt qua quá trình lão hóa sinh sản, vốn giới hạn tuổi thọ của các tế bào nguyên phát, cho phép chúng được nuôi cấy liên tục trong môi trường nhân tạo.

Các tế bào hCMEC/D3 duy trì các đặc điểm sinh lý và hình thái học quan trọng của tế bào nội mô mạch máu não nguyên phát, khiến chúng trở thành mô hình quý giá cho các nghiên cứu in vitro về BBB. Điều này bao gồm việc biểu hiện các protein liên kết chặt chẽ như claudin-5, occludin và zonula occludens-1, vốn là yếu tố quan trọng để duy trì tính toàn vẹn của hàng rào. Các tế bào này cũng biểu hiện các vận chuyển và thụ thể đặc trưng của nội mô não, hỗ trợ việc sử dụng chúng trong các nghiên cứu liên quan đến vận chuyển thuốc và rối loạn thần kinh mạch máu. Khả năng hình thành lớp đơn chặt chẽ với điện trở cao của hCMEC/D3 nhấn mạnh sự phù hợp của chúng cho các thử nghiệm độ thấm của BBB.

Các nghiên cứu sử dụng tế bào hCMEC/D3 đã bao quát nhiều ứng dụng, bao gồm việc nghiên cứu các bệnh lý não như đột quỵ, xơ cứng rải rác và di căn ung thư đến não. Khả năng tương thích với các kỹ thuật sinh học phân tử cũng khiến chúng trở thành công cụ tuyệt vời để nghiên cứu phản ứng của tế bào nội mô đối với các kích thích viêm, áp lực cắt và các chất độc thần kinh. Dòng tế bào này cung cấp một nền tảng mạnh mẽ, có thể tái tạo để phân tích các sự kiện phân tử ở mức độ nội mô não, góp phần mang lại những hiểu biết quý giá về sự phức tạp của sức khỏe và bệnh lý thần kinh mạch máu.

Organism

Con người

Tissue

Não, thủy thái dương, mạch máu nhỏ

Disease

Tế bào nội mô vi mạch não bình thường (được bất tử hóa bằng hTERT và SV40; mô hình hàng rào máu-não; không gây ung thư)

Metastatic site

Không áp dụng (dòng tế bào nội mô não bình thường; không phải mẫu khối u)

Applications

Nghiên cứu về hàng rào máu-não (BBB); viêm thần kinh; sự thâm nhập và tính thấm của thuốc vào hệ thần kinh trung ương; di chuyển xuyên qua tế bào nội mô; sinh học của các mối nối chặt chẽ (claudin-5, occludin, ZO-1); mô hình hóa bệnh thần kinh; phản ứng với ứng suất cắt; thử nghiệm độc tính thần kinh

Synonyms

hCMEC/D3, CMEC/D3, Tế bào nội mô mạch máu nhỏ vỏ não người/D3

Đặc điểm

Age

Người lớn

tế bào hCMEC/D3 | 305024

Gender	Nữ
Ethnicity	Không được chỉ định
Morphology	Nội mô
Cell type	Tế bào nội mô
Growth properties	Người tuân thủ

Dữ liệu quy định

Citation	hCMEC/D3 (Số catalog Cytion 305024)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_U985
GMO Status	GMO-S1: Dòng tế bào nội mô mạch máu vi mô của người (hCMEC/D3) này chứa các cấu trúc lentivirus mã hóa kháng nguyên T của SV40 hoặc hTERT, hỗ trợ quá trình bất tử hóa ổn định. Phần chèn được tích hợp vào các tế bào nội mô nguyên phát. Phân loại này chỉ áp dụng trong phạm vi Đức và có thể khác nhau ở các khu vực khác.

Dữ liệu sinh học phân tử

Viruses	Biến thể: Virus khi 40 (SV40)
----------------	-------------------------------

Xử lý

Culture Medium	EGM-2 MV Dung dịch nuôi cấy tế bào nội mô mạch máu vi mô-2 BulletKit (của Lonza, mã sản phẩm Lonza CC-3202)
Supplements	Bổ sung môi trường cơ bản EBM-2 theo hướng dẫn của nhà sản xuất
Dissociation Reagent	Accutase hoặc Trypsin-EDTA 0,25% (thực hiện nhanh; không để quá trình phân giải bằng trypsin diễn ra quá lâu)
Doubling time	khoảng 24 đến 36 giờ

tế bào hCMEC/D3 | 305024

Subculturing Loại bỏ môi trường nuôi cấy, rửa bằng PBS không chứa $\text{Ca}^{2+}/\text{Mg}^{2+}$, thêm Accutase (3–5 phút ở 37°C), trung hòa bằng môi trường hoàn chỉnh, ly tâm ở 300×g trong 5 phút, cấy lại với mật độ $1-2 \times 10^4$ tế bào/cm² vào các bình nuôi cấy được phủ collagen.

Split ratio 1 đến 3

Seeding density 1 đến 2×10^4 tế bào/cm² (trên bề mặt được phủ collagen I)

Fluid renewal Cứ 1 đến 2 ngày một lần

Freeze medium Như một môi trường bảo quản đông lạnh, chúng tôi sử dụng hỗn hợp 50% môi trường cơ bản + 40% huyết thanh bò phôi (FBS) + 10% DMSO, hoặc CM-1 (mã sản phẩm 800100 của Cytion), bao gồm các chất bảo vệ thẩm thấu và chất ổn định chuyển hóa được tối ưu hóa để nâng cao khả năng phục hồi và giảm stress do đông lạnh gây ra.

Thawing and Culturing Cells

1. Xác nhận rằng ống nghiệm vẫn được đông lạnh sâu khi giao hàng, vì tế bào được vận chuyển trên đá khô để duy trì nhiệt độ tối ưu trong quá trình vận chuyển.
2. Khi nhận hàng, hãy bảo quản ống nghiệm đông lạnh ngay lập tức ở nhiệt độ dưới -150°C để đảm bảo tính toàn vẹn của tế bào, hoặc tiến hành bước 3 nếu cần nuôi cấy ngay lập tức.
3. Để nuôi cấy ngay lập tức, hãy rã đông ống nghiệm nhanh chóng bằng cách ngâm nó trong bồn nước 37°C với nước sạch và chất kháng khuẩn, khuấy nhẹ trong 40-60 giây cho đến khi còn lại một khối băng nhỏ.
4. Thực hiện tất cả các bước tiếp theo trong điều kiện vô trùng trong tủ hút khí, khử trùng ống cryovial bằng cồn 70% trước khi mở.
5. Mở ống đã khử trùng một cách cẩn thận và chuyển hỗn hợp tế bào vào ống ly tâm 15 ml chứa 8 ml môi trường nuôi cấy ở nhiệt độ phòng, khuấy nhẹ.
6. Ly tâm hỗn hợp ở 300 x g trong 3 phút để tách tế bào và cẩn thận loại bỏ dịch siêu âm chứa môi trường đông lạnh còn lại.
7. Nhẹ nhàng hòa tan lại khối tế bào trong 10 ml môi trường nuôi cấy tươi. Đối với tế bào bám dính, chia hỗn hợp vào hai bình nuôi cấy T25; đối với tế bào nuôi cấy lơ lửng, chuyển toàn bộ môi trường vào một bình T25 để thúc đẩy tương tác và phát triển tế bào hiệu quả.
8. Tuân thủ các quy trình nuôi cấy con được thiết lập để duy trì sự phát triển và bảo quản dòng tế bào, đảm bảo kết quả thí nghiệm đáng tin cậy.

tế bào hCMEC/D3 | 305024

Incubation Atmosphere 37°C, 5%_{CO₂}, môi trường ẩm.

Flask Coating Không có

Freezing Procedure Các dòng tế bào được bảo quản bằng phương pháp đông lạnh được vận chuyển trên đá khô trong bao bì cách nhiệt đã được kiểm định, kèm theo lượng chất làm lạnh đủ để duy trì nhiệt độ khoảng -78 °C trong suốt quá trình vận chuyển. Khi nhận hàng, hãy kiểm tra ngay lập tức bao bì và chuyển các ống nghiệm sang nơi lưu trữ phù hợp mà không chậm trễ.

Shipping Conditions Các dòng tế bào được bảo quản bằng phương pháp đông lạnh được vận chuyển trên đá khô trong bao bì cách nhiệt đã được kiểm định, kèm theo lượng chất làm lạnh đủ để duy trì nhiệt độ khoảng -78 °C trong suốt quá trình vận chuyển. Khi nhận hàng, hãy kiểm tra ngay lập tức bao bì và chuyển các ống nghiệm sang nơi lưu trữ phù hợp mà không chậm trễ.

Storage Conditions Để bảo quản lâu dài, hãy đặt ống nghiệm vào nitơ lỏng ở pha hơi ở nhiệt độ khoảng -150 đến -196 °C. Việc bảo quản ở -80 °C chỉ được chấp nhận như một bước trung gian ngắn hạn trước khi chuyển sang nitơ lỏng.

Kiểm soát chất lượng / Hồ sơ di truyền / HLA

Sterility Sự nhiễm khuẩn Mycoplasma được loại trừ bằng cả các phương pháp xét nghiệm dựa trên PCR và các phương pháp phát hiện Mycoplasma dựa trên phát quang.

Để đảm bảo không có nhiễm khuẩn vi khuẩn, nấm hoặc men, các mẫu nuôi cấy tế bào được kiểm tra trực quan hàng ngày.