hCMEC/D3

305024

ALLGEMEINE INFORMATIONEN

Beschreibung

Bei der HCMEC/D3-Zelllinie handelt es sich um eine immortalisierte humane zerebrale mikrovaskuläre Endothelzelllinie, die bei der Erforschung der Blut-Hirn-Schranke (BHS) ausgiebig eingesetzt wird. Diese Zelllinie wurde durch die Transduktion primärer menschlicher mikrovaskulärer Hirnendothelzellen mit einem lentiviralen Vektor erzeugt, der humane Telomerase-Reverse-Transkriptase (hTERT) exprimiert, ein entscheidendes Enzym für die Aufrechterhaltung der Telomerlänge, das die Langlebigkeit der Zellen fördert, ohne den Phänotyp der Zellen zu verändern. Die Einführung von hTERT hilft diesen Zellen, die replikative Seneszenz zu umgehen, die die Lebensspanne von Primärzellen begrenzt, und ermöglicht eine anhaltende Vermehrung in der Kultur.
HCMEC/D3-Zellen behalten wichtige physiologische und morphologische Merkmale primärer zerebraler Endothelzellen bei, was sie zu einem wertvollen Modell für In-vitro-Studien der BHS macht. Dazu gehört die Expression von Tight-Junction-Proteinen wie Claudin-5, Occludin und Zonula Occludens-1, die für die Aufrechterhaltung der Integrität der Barriere entscheidend sind. Die Zellen exprimieren auch verschiedene Transporter und Rezeptoren, die für das zerebrale Endothel typisch sind, was ihre Verwendung in Studien zur Medikamentenverabreichung und zu neurovaskulären Störungen unterstützt. Die Fähigkeit von HCMEC/D3, einen dichten Monolayer mit hohem elektrischem Widerstand zu bilden, unterstreicht ihre Eignung für Permeabilitätstests der BHS.
Die Forschung mit HCMEC/D3-Zellen deckt ein breites Spektrum von Anwendungen ab, darunter die Untersuchung von Hirnpathologien wie Schlaganfall, Multiple Sklerose und Metastasenbildung von Krebs im Gehirn. Ihre Kompatibilität mit verschiedenen molekularbiologischen Techniken macht sie auch zu einem ausgezeichneten Instrument für die Untersuchung der Reaktionen von Endothelzellen auf Entzündungsreize, Scherstress und neurotoxische Substanzen. Diese Zelllinie bietet eine robuste, reproduzierbare Plattform für die Untersuchung der molekularen Vorgänge auf der Ebene des zerebralen Endothels und trägt so zu wertvollen Erkenntnissen über die Komplexität der neurovaskulären Gesundheit und Krankheit bei.

Gewebe	Gehirn, Schläfenlappen, Blutmikrogefäße
Krankheit	Normales zerebrales mikrovaskuläres Endothel (hTERT- und SV40-immortalisiert; Blut-Hirn-Schranken-Modell; nicht tumorigen)
Metastasenherd	Nicht zutreffend (normale Hirnendothelzelllinie; keine Tumorprobe)

Anwendungen

Forschung zur Blut-Hirn-Schranke (BHS); Neuroinflammation; Wirkstofftransport ins ZNS und Permeabilität; transendotheliale Migration; Biologie der Tight Junctions (Claudin-5, Occludin, ZO-1); Modellierung neurologischer Erkrankungen; Reaktionen auf Scherspannung; Neurotoxizitätstests

Synonyme

- HCMEC/D3
- CMEC/D3
- human Cortical Microvessels Endothelial Cells/D3

KLASSIFIZIERUNG

Organismus	Mensch
Sex	Weiblich
Wachstumseigenschaften	Anhänger
GVO-Status	GMO-S1

Angaben zum GVO-Status

GMO-S1: This human microvascular endothelial cell line (hCMEC/D3) contains lentiviral constructs encoding SV40 T-Antigen or hTERT, supporting stable immortalization. The insert is integrated into primary endothelial cells. This classification applies only within Germany and may differ elsewhere.

Cytion GmbH
Nikola-Tesla-Str. 3
69124 Heidelberg
Tel: +49 (0)6221 405780
info@cytion.com
cytion.com

Registered office Heidelberg
VAT ID: DE283292917
Local court Mannheim - HRB 714394
CEO / Geschäftsführer: Jonathan Steubing

Banking information
Sparkasse Heidelberg
IBAN: DE35 6725 0020 0009 2076 86
BIC: SOLADES1HDB

Biologische Sicherheitsstufe	1

MERKMALE

Morphologie	Endothelähnlich (Kopfsteinpflaster)
Zelltyp	Endothelzelle
Verdopplungszeit	ca. 24 bis 36 Stunden

BEZEICHNER

Quellenangabe

hCMEC/D3 (Cytion-Katalognummer 305024)

NCBI-Steuer-ID	9606
Cellosaurus	CVCL_U985

EXPRESSION UND ANFÄLLIGKEIT

Viren

Transformant: Simian-Virus 40 (SV40)

HANDHABUNG UND KULTUR

Nährmedium

EGM -2 MV Microvascular Endothelial Cell Growth Medium-2 BulletKit (von Lonza, Lonza Katalognummer CC-3202)

Inkubationsatmosphäre	37°C, 5%CO2, befeuchtete Atmosphäre.

Nahrungsergänzungsmittel

Ergänzen Sie das mitgelieferte EBM-2 Basalmedium wie vom Hersteller empfohlen

Dissoziationsreagenz	Accutase oder 0,25 % Trypsin-EDTA (kurz; nicht zu lange mit Trypsin behandeln)

Subkultivierung

Medium entfernen, mit PBS ohne Ca^{2+}/Mg^{2+} waschen, Accutase hinzufügen (3–5 min bei 37 °C), mit Komplettmedium neutralisieren, 300×g 5 min zentrifugieren, mit 1–2 × 10^4 Zellen/cm^2 in kollagenbeschichtete Flaschen ausplattieren.

Split-Verhältnis	1 bis 3
Aussaatdichte	1 bis 2 × 10^4 Zellen/cm^2 (auf mit Kollagen I beschichteten Oberflächen)
Flüssigkeitswechsel	Alle 1 bis 2 Tage

Auftauen und Kultivierung

Confirm that the vial remains deeply frozen upon delivery, as cells are shipped on dry ice to maintain optimal temperatures during transit.
Upon receipt, either store the cryovial immediately at temperatures below -150°C to ensure the preservation of cellular integrity, or proceed to step 3 if immediate culturing is required.
For immediate culturing, swiftly thaw the vial by immersing it in a 37°C water bath with clean water and an antimicrobial agent, agitating gently for 40-60 seconds until a small ice clump remains.
Perform all subsequent steps under sterile conditions in a flow hood, disinfecting the cryovial with 70% ethanol before opening.
Carefully open the disinfected vial and transfer the cell suspension into a 15 ml centrifuge tube containing 8 ml of room-temperature culture medium, mixing gently.
Centrifuge the mixture at 300 x g for 3 minutes to separate the cells and carefully discard the supernatant containing residual freezing medium.
Gently resuspend the cell pellet in 10 ml of fresh culture medium. For adherent cells, divide the suspension between two T25 culture flasks; for suspension cultures, transfer all the medium into one T25 flask to promote effective cell interaction and growth.
Adhere to established subculture protocols for continued growth and maintenance of the cell line, ensuring reliable experimental outcomes.

QUALITÄTSKONTROLLE UND KRYOKONSERVIERUNG

Sterilität

Eine Kontamination mit Mykoplasmen wird sowohl durch PCR-basierte Assays als auch durch lumineszenzbasierte Mykoplasmen-Nachweisverfahren ausgeschlossen.
Um sicherzustellen, dass keine Kontamination mit Bakterien, Pilzen oder Hefen vorliegt, werden die Zellkulturen täglich visuell überprüft.

Gefriermedium	Als Kryokonservierungsmedium verwenden wir 50 % Basalmedium + 40 % FBS + 10 % DMSO oder CM-1 (Cytion-Katalognummer 800100), das optimierte Osmoprotektiva und Stoffwechselstabilisatoren enthält, um die Erholung zu verbessern und den kryoinduzierten Stress zu verringern.

Lagerbedingungen

Zur Langzeitkonservierung werden die Fläschchen in flüssigem Stickstoff bei etwa -150 bis -196 °C gelagert. Eine Lagerung bei -80 °C ist nur als kurzer Zwischenschritt vor der Überführung in flüssigen Stickstoff akzeptabel.

Versandbedingungen

Kryokonservierte Zelllinien werden auf Trockeneis in einer validierten, isolierten Verpackung mit ausreichend Kühlmittel versandt, um während des gesamten Transports eine Temperatur von etwa -78 °C aufrechtzuerhalten. Prüfen Sie den Behälter bei Erhalt sofort und bringen Sie die Fläschchen unverzüglich in ein geeignetes Lager.

SPENDER

Alter des Spenders	Erwachsener
Ethnische Zugehörigkeit	Keine Angaben

RECHTLICHES UND SICHERHEIT

Sicherheitshinweise

Wenn Sie planen, ein Kryovial in flüssigem Stickstoff zu lagern, um es später aufzutauen, müssen Sie strenge Sicherheitsmaßnahmen einhalten. Geeignete Schutzhandschuhe und -kleidung sind unerlässlich, und beim Transfer der gefrorenen Proben in den oder aus dem Flüssigstickstofftank ist das Tragen einer Gesichtsmaske oder einer Schutzbrille erforderlich. Damit soll die Verletzungsgefahr durch mögliche Explosionen der Kryovials bei der Entnahme, die zum Herausschleudern von scharfen Fragmenten führen können, verringert werden.

Garantie

Bei Cytion stehen wir hinter der Qualität und Lebensfähigkeit unserer Produkte.
Wir garantieren, dass unsere Zellen zu Beginn der Kultur für 60 Tage nach dem Versand aus unseren Einrichtungen lebensfähig sind.
Wir versichern, dass alle Materialien mit den im Analysezertifikat und/oder Produktblatt beschriebenen Spezifikationen übereinstimmen
Ausführliche Informationen finden Sie in unserer <a href=""/Who-we-are/Warranty/"" hreflang=""x-default"">Garantieerklärung

Materialübertragungsvereinbarung erforderlich	Yes