hCMEC/D3

305024

ALGEMENE INFORMATIE

Beschrijving

De HCMEC/D3-cellijn vertegenwoordigt een geïmmortaliseerde menselijke cerebrale microvasculaire endotheelcellijn, die uitgebreid wordt gebruikt bij het bestuderen van de bloed-hersenbarrière (BBB). Deze cellijn werd gegenereerd door transductie van primaire humane cerebrale microvasculaire endotheelcellen met een lentivirale vector die humaan telomerase reverse transcriptase (hTERT) uitdrukt, een cruciaal enzym voor het handhaven van telomeerlengte en daardoor het bevorderen van cellulaire levensduur zonder het fenotype van de cel te veranderen. De introductie van hTERT helpt deze cellen om de replicatieve senescentie, die de levensduur van primaire cellen beperkt, te omzeilen, waardoor duurzame vermeerdering in cultuur mogelijk is.
HCMEC/D3 cellen behouden belangrijke fysiologische en morfologische eigenschappen van primaire cerebrale endotheelcellen, waardoor ze een waardevol model zijn voor in vitro studies van de BBB. Hieronder valt de expressie van tight junction-eiwitten zoals claudine-5, occludine en zonula occludens-1, die essentieel zijn voor het behoud van de integriteit van de barrière. De cellen brengen ook verschillende transporters en receptoren tot expressie die typerend zijn voor het cerebrale endotheel, waardoor ze gebruikt kunnen worden in onderzoeken naar de toediening van medicijnen en neurovasculaire aandoeningen. Het vermogen van HCMEC/D3 om een hechte monolaag te vormen met een hoge elektrische weerstand onderstreept hun geschiktheid voor doorlaatbaarheidstests van de BBB.
Onderzoek met HCMEC/D3 cellen heeft een breed scala aan toepassingen, waaronder het onderzoeken van cerebrale pathologieën zoals beroerte, multiple sclerose en uitzaaiing van kanker naar de hersenen. Door hun compatibiliteit met verschillende moleculaire biologietechnieken zijn ze ook een uitstekend hulpmiddel voor het bestuderen van de respons van endotheelcellen op ontstekingsstimuli, schuifspanning en neurotoxische stoffen. Deze cellijn biedt een robuust, reproduceerbaar platform voor het ontleden van de moleculaire gebeurtenissen op het cerebrale endotheelniveau en draagt zo bij aan waardevolle inzichten in de complexiteit van neurovasculaire gezondheid en ziekte.

Weefsel	Hersenen, temporale kwab, bloed microvaatje
Ziekte	Normaal microvasculair endotheel van de hersenen (hTERT- en SV40-geimmortaliseerd; bloed-hersenbarrièremodel; niet-tumorogene)
Plaats van uitzaaiingen	Niet van toepassing (normale endotheelcellijn van de hersenen; geen tumormonster)

Toepassingen

Onderzoek naar de bloed-hersenbarrière (BBB); neuro-ontsteking; toediening van geneesmiddelen aan het centrale zenuwstelsel en permeabiliteit; transendotheliale migratie; biologie van tight junctions (claudine-5, occludine, ZO-1); modellering van neurologische aandoeningen; reacties op schuifspanning; neurotoxiciteitstesten

Synoniemen

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

CLASSIFICATIE

Organisme	Mens
Seks	Vrouw
Groei-eigenschappen	Aanhanger
GGO-status	GMO-S1

Details over de GGO-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

Bioveiligheidsniveau	1

KENMERKEN

Morfologie	Endotheelachtig (kasseienpatroon)
Celtype	Endotheelcel
Verdubbelingstijd	ongeveer 24 tot 36 uur

IDENTIFICATIEGEGEVENS

Bronvermelding

hCMEC/D3 (Cytion catalogusnummer 305024)

NCBI-belastingnummer	9606
Cellosaurus	CVCL_U985

EXPRESSIE EN VATBAARHEID

Virussen

Transformant: Simian virus 40 (SV40)

BEHANDELING EN KWEEK

Kweekmedium

EGM -2 MV Microvasculair Endotheelcel Groeimedium-2 BulletKit (van Lonza, Lonza catalogusnummer CC-3202)

Incubatieomgeving	37°C, 5%CO2, bevochtigde atmosfeer.

Supplementen

Vul het meegeleverde EBM-2 basismedium aan zoals aanbevolen door de fabrikant

Dissociatiereagens	Accutase of 0,25% trypsine-EDTA (kort; niet te lang met trypsine behandelen)

Heruitplanten

Verwijder het medium, was met PBS zonder Ca^{2+}/Mg^{2+}, voeg Accutase toe (3–5 min bij 37 °C), neutraliseer met compleet medium, centrifugeer 300×g gedurende 5 min, zaai opnieuw uit met 1–2 × 10^4 cellen/cm^2 op met collageen gecoate kweekflessen.

Splitsingsverhouding	1 tot en met 3
Zaaidichtheid	1 tot 2 × 10^4 cellen/cm^2 (op met collageen I gecoate oppervlakken)
Vloeistofverversing	Om de 1 à 2 dagen

Ontdooien en kweken

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.

KWALITEITSCONTROLE EN CRYOPRESERVATIE

Onvruchtbaarheid

Mycoplasmaverontreiniging wordt uitgesloten met zowel PCR-gebaseerde testen als op luminescentie gebaseerde mycoplasmadetectiemethoden.
Om er zeker van te zijn dat er geen besmetting is met bacteriën, schimmels of gisten, worden de celculturen dagelijks onderworpen aan visuele inspecties.

Kweekmedium invriezen	Als cryoconserveringsmedium gebruiken we 50% basaal medium + 40% FBS + 10% DMSO, of CM-1 (Cytion catalogusnummer 800100), dat geoptimaliseerde osmoprotectanten en metabolische stabilisatoren bevat om het herstel te verbeteren en cryogeïnduceerde stress te verminderen.

Opslagvoorwaarden

Voor langdurige bewaring plaatst u flesjes in vloeibare stikstof in dampfase bij ongeveer -150 tot -196 °C. Opslag bij -80 °C is alleen aanvaardbaar als korte tussenstap vóór overbrenging naar vloeibare stikstof.

Verzendvoorwaarden

Gecryopreserveerde cellijnen worden verzonden op droog ijs in gevalideerde, geïsoleerde verpakkingen met voldoende koelmiddel om gedurende het transport ongeveer -78 °C te handhaven. Inspecteer de verpakking onmiddellijk na ontvangst en breng de flacons onverwijld over naar de juiste opslagplaats.

DONATEUR

Leeftijd van de donor	Volwassen
Etnische afkomst	Niet gespecificeerd

JURIDISCHE EN VEILIGHEIDSASPECTEN

Veiligheidsmaatregelen

Wanneer men van plan is om een cryovial in vloeibare stikstof op te slaan om later te ontdooien, is het verplicht om strenge veiligheidsmaatregelen in acht te nemen. Passende beschermende handschoenen en kleding zijn essentieel en het gebruik van een gezichtsmasker of veiligheidsbril is vereist tijdens het overbrengen van bevroren monsters naar of uit de tank met vloeibare stikstof. Dit is om het risico op letsel door mogelijke cryoviale explosies bij het verwijderen te beperken, wat kan resulteren in de projectie van scherpe fragmenten.

Garantie

Bij Cytion staan we achter de kwaliteit en levensvatbaarheid van onze producten.
We garanderen dat onze cellen levensvatbaar zijn bij het begin van de kweek gedurende 60 dagen na verzending vanuit onze faciliteiten.
We verzekeren dat alle materialen voldoen aan de specificaties beschreven in het analysecertificaat en/of productblad
Raadpleeg voor volledige informatie onze <a href=""/Wie-zijn-wij/Garantie/"" hreflang=""x-default"">Garantieverklaring

Er is een overeenkomst inzake materiaaloverdracht vereist	Yes

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