hCMEC/D3

305024

INFORMACJE OGÓLNE

Opis

Linia komórkowa HCMEC/D3 reprezentuje unieśmiertelnioną linię ludzkich komórek śródbłonka mikronaczyniowego mózgu, szeroko wykorzystywaną w badaniach bariery krew-mózg (BBB). Ta linia komórkowa została wygenerowana poprzez transdukcję pierwotnych ludzkich komórek śródbłonka mikronaczyniowego mózgu wektorem lentiwirusowym wyrażającym ludzką odwrotną transkryptazę telomerazy (hTERT), kluczowy enzym utrzymujący długość telomerów, a tym samym promujący długowieczność komórek bez przekształcania ich fenotypu. Wprowadzenie hTERT pomaga tym komórkom ominąć starzenie replikacyjne, które ogranicza żywotność komórek pierwotnych, umożliwiając trwałe rozmnażanie w hodowli.
Komórki HCMEC/D3 zachowują kluczowe fizjologiczne i morfologiczne cechy pierwotnych komórek śródbłonka mózgowego, co czyni je cennym modelem do badań in vitro BBB. Obejmują one ekspresję białek ścisłego połączenia, takich jak klaudyna-5, okludyna i zonula occludens-1, które są krytyczne dla utrzymania integralności bariery. Komórki te wykazują również ekspresję różnych transporterów i receptorów typowych dla śródbłonka mózgowego, co wspiera ich wykorzystanie w badaniach związanych z dostarczaniem leków i zaburzeniami nerwowo-naczyniowymi. Zdolność HCMEC/D3 do tworzenia szczelnej monowarstwy o wysokiej oporności elektrycznej podkreśla ich przydatność do testów przepuszczalności BBB.
Badania wykorzystujące komórki HCMEC/D3 obejmują szeroki zakres zastosowań, w tym badanie patologii mózgu, takich jak udar, stwardnienie rozsiane i przerzuty raka do mózgu. Ich kompatybilność z różnymi technikami biologii molekularnej czyni je również doskonałym narzędziem do badania odpowiedzi komórek śródbłonka na bodźce zapalne, stres ścinający i substancje neurotoksyczne. Ta linia komórkowa zapewnia solidną, powtarzalną platformę do analizy zdarzeń molekularnych na poziomie śródbłonka mózgowego, przyczyniając się do cennego wglądu w złożoność zdrowia i choroby układu nerwowo-naczyniowego.

Chusteczka	Mózg, płat skroniowy, mikronaczynia krwionośne
Choroba	Normalne śródbłonek mikronaczyniowy mózgu (unieśmiertelniony za pomocą hTERT i SV40; model bariery krew-mózg; nie wywołujący nowotworów)
Miejsce przerzutów	Nie dotyczy (normalna linia komórek śródbłonka mózgowego; nie jest to próbka nowotworowa)

Zastosowania

Badania nad barierą krew-mózg (BBB); neurozapalenie; dostarczanie leków do OUN i przepuszczalność; migracja przez śródbłonek; biologia połączeń ścisłych (klaudyna-5, okludyna, ZO-1); modelowanie chorób neurologicznych; reakcje na naprężenie ścinające; badania neurotoksyczności

Synonimy

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

KLASYFIKACJA

Organizm	Człowiek
Seks	Kobieta
Właściwości związane ze wzrostem	Zwolennik
Status GMO	GMO-S1

Szczegółowe informacje dotyczące statusu GMO

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

Poziom bezpieczeństwa biologicznego	1

CECHY CHARAKTERYSTYCZNE

Morfologia	Podobny do śródbłonka (kostka brukowa)
Typ komórki	Komórka śródbłonka
Czas podwojenia	ok. 24–36 godzin

IDENTYFIKATORY

Źródło

hCMEC/D3 (numer katalogowy Cytion 305024)

Numer identyfikacji podatkowej NCBI	9606
Cellosaurus	CVCL_U985

EKSPRESJA I PODATNOŚĆ

Wirusy

Transformant: Simian virus 40 (SV40)

POSTĘPOWANIE I HODOWLA

Pożywka hodowlana

EGM -2 MV Microvascular Endothelial Cell Growth Medium-2 BulletKit (od Lonza, numer katalogowy Lonza CC-3202)

Atmosfera inkubacyjna	37°C, 5%CO2, nawilżona atmosfera.

Suplementy

Uzupełnić dostarczoną pożywkę podstawową EBM-2 zgodnie z zaleceniami producenta

Odczynnik dysocjacyjny	Accutase lub 0,25% roztwór trypsyny z EDTA (krótko; nie należy poddawać nadmiernej trypsynizacji)

Hodowla komórek w subkulturze

Usunąć pożywkę, przepłukać roztworem PBS bez Ca^{2+}/Mg^{2+}, dodać Accutase (3–5 min w temperaturze 37°C), zneutralizować kompletną pożywką, odwirować przy 300×g przez 5 min, ponownie wysiać w gęstości 1–2 × 10^4 komórek/cm^2 do kolb pokrytych kolagenem.

Współczynnik podziału	od 1 do 3
Gęstość wysiewu	1 do 2 × 10^4 komórek/cm^2 (na powierzchniach pokrytych kolagenem I)
Odnawianie płynów	Co 1–2 dni

Rozmrażanie i hodowla

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.

KONTROLA JAKOŚCI I KRIOKONSERWACJA

Bezpłodność

Zanieczyszczenie mykoplazmą jest wykluczane przy użyciu zarówno testów opartych na PCR, jak i metod wykrywania mykoplazmy opartych na luminescencji.
Aby upewnić się, że nie ma zanieczyszczenia bakteriami, grzybami lub drożdżami, hodowle komórkowe są poddawane codziennym kontrolom wizualnym.

Pożywka do zamrażania	Jako pożywki do kriokonserwacji używamy 50% pożywki podstawowej + 40% FBS + 10% DMSO lub CM-1 (numer katalogowy Cytion 800100), która zawiera zoptymalizowane osmoprotektanty i stabilizatory metaboliczne w celu zwiększenia regeneracji i zmniejszenia stresu wywołanego kriokonserwacją.

Warunki przechowywania

W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiolki w ciekłym azocie w fazie lotnej w temperaturze od -150 do -196 °C.
Przechowywanie w temperaturze -80 °C jest dopuszczalne tylko jako krótki etap przejściowy przed przeniesieniem do ciekłego azotu.

Warunki wysyłki

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

DARCZYŃCA

Wiek dawcy	Dorosły
Pochodzenie etniczne	Nie określono

KWESTIE PRAWNE I BEZPIECZEŃSTWO

Środki bezpieczeństwa

Planując przechowywanie kriofiolek w ciekłym azocie w celu ich późniejszego rozmrożenia, należy bezwzględnie przestrzegać rygorystycznych środków bezpieczeństwa. Niezbędne są odpowiednie rękawice i odzież ochronna, a podczas przenoszenia zamrożonych próbek do lub ze zbiornika z ciekłym azotem wymagane jest stosowanie maski lub okularów ochronnych. Ma to na celu zmniejszenie ryzyka obrażeń spowodowanych potencjalnymi eksplozjami kriowialu podczas wyjmowania, które mogą skutkować wyrzuceniem ostrych fragmentów.

Gwarancja

W Cytion gwarantujemy jakość i żywotność naszych produktów.
Gwarantujemy, że nasze komórki będą żywotne na początku hodowli przez 60 dni po wysyłce z naszych zakładów.
Zapewniamy, że wszystkie materiały są zgodne ze specyfikacjami opisanymi w certyfikacie analizy i/lub karcie produktu
Szczegółowe informacje można znaleźć w naszej <a href=""/Who-we-are/Warranty/"" hreflang=""x-default"">Oświadczeniu gwarancyjnym

Wymagana umowa o transferze materiałów	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