hCMEC/D3

305024

ALLMÄN INFORMATION

Beskrivning

HCMEC/D3-cellinjen representerar en odödliggjord human cerebral mikrovaskulär endotelcellinje, som används i stor utsträckning vid studier av blod-hjärnbarriären (BBB). Denna cellinje genererades genom transduktion av primära mänskliga cerebrala mikrovaskulära endotelceller med en lentiviral vektor som uttrycker humant telomeras omvänt transkriptas (hTERT), ett viktigt enzym för att bibehålla telomerlängden och därigenom främja cellens livslängd utan att förändra cellens fenotyp. Introduktionen av hTERT hjälper dessa celler att kringgå den replikativa senescens som begränsar livslängden hos primära celler, vilket möjliggör en långvarig förökning i odling.
HCMEC/D3-cellerna bibehåller viktiga fysiologiska och morfologiska egenskaper hos primära cerebrala endotelceller, vilket gör dem till en värdefull modell för in vitro-studier av BBB. Dessa inkluderar uttryck av tight junction-proteiner som claudin-5, occludin och zonula occludens-1, som är avgörande för att upprätthålla barriärens integritet. Cellerna uttrycker också olika transportörer och receptorer som är typiska för det cerebrala endotelet, vilket stöder deras användning i studier relaterade till läkemedelstillförsel och neurovaskulära störningar. HCMEC/D3:s förmåga att bilda ett tätt monolager med hög elektrisk resistans understryker deras lämplighet för BBB-permeabilitetsanalyser.
Forskning med HCMEC/D3-celler har omfattat ett brett spektrum av tillämpningar, inklusive undersökning av cerebrala patologier som stroke, multipel skleros och metastasering av cancer till hjärnan. Deras kompatibilitet med olika molekylärbiologiska tekniker gör dem också till ett utmärkt verktyg för att studera endotelcellers svar på inflammatoriska stimuli, skjuvstress och neurotoxiska ämnen. Denna cellinje utgör en robust, reproducerbar plattform för dissekering av molekylära händelser på cerebral endotelial nivå, vilket bidrar med värdefulla insikter om komplexiteten i neurovaskulär hälsa och sjukdom.

Vävnad	Hjärna, tinninglob, blodmikrovätska
Sjukdom	Normalt mikrovaskulärt endotel i hjärnan (hTERT- och SV40-immortaliserat; blod-hjärnbarriärmodell; icke-tumörbildande)
Metastaseringsställe	Ej tillämpligt (normal hjärnendotelcellinje; inte ett tumörprov)

Ansökningar

Forskning om blod-hjärnbarriären (BBB); neuroinflammation; läkemedelsdistribution och permeabilitet i centrala nervsystemet; transendotelial migration; biologin bakom täta förbindelser (claudin-5, ockludin, ZO-1); modellering av neurologiska sjukdomar; reaktioner på skjuvspänning; neurotoxicitetstestning

Synonymer

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

KLASSIFICERING

Organism	Människa
Kön	Kvinna
Tillväxtegenskaper	Följsam
GMO-status	GMO-S1

Detaljer om GMO-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.

Biosäkerhetsnivå	1

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

EGENSKAPER

Morfologi	Endotelcellsliknande (kullstensmönster)
Celltyp	Endotelial cell
Fördubblingstid	ca 24 till 36 timmar

IDENTIFIERARE

Källa

hCMEC/D3 (Cytion katalognummer 305024)

NCBI-skattenummer	9606
Cellosaurus	CVCL_U985

UTTRYCK OCH MOTTAGLIGHET

Virus

Transformant: Simian virus 40 (SV40)

HANTERING OCH ODLING

Odlingsmedium

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

Inkubationsatmosfär	37°C, 5%CO2, befuktad atmosfär.

Kosttillskott

Komplettera det medföljande EBM-2 Basal Medium enligt tillverkarens rekommendationer

Dissociationsmedel	Accutase eller 0,25 % trypsin-EDTA (kortvarig behandling; undvik överdriven trypsinering)

Vidareodling

Avlägsna odlingsmediet, tvätta med PBS utan Ca^{2+}/Mg^{2+}, tillsätt Accutase (3–5 min vid 37 °C), neutralisera med komplett medium, centrifugera 300×g i 5 minuter, återuts å 1–2 × 10^4 celler/cm^2 på kollagenbelagda kolvar.

Uppdelningsförhållande	1 till 3
Såtäthet	1 till 2 × 10^4 celler/cm^2 (på ytor belagda med kollagen I)
Vätskeförnyelse	Var 1–2 dagar

Upptining och odling

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.

KVALITETSKONTROLL OCH KRYOKONSERVERING

Sterilitet

Mykoplasmakontaminering utesluts med hjälp av både PCR-baserade analyser och luminiscensbaserade metoder för mykoplasmadiagnostik. För att säkerställa att det inte finns någon kontaminering av bakterier, svamp eller jäst utsätts cellkulturerna för dagliga visuella inspektioner.

Frysmedel	Som kryokonserveringsmedium använder vi 50% basalt medium + 40% FBS + 10% DMSO, eller CM-1 (Cytion katalognummer 800100), som innehåller optimerade osmoprotektanter och metaboliska stabilisatorer för att förbättra återhämtningen och minska kryoinducerad stress.

Förvaringsförhållanden

För långtidsförvaring, placera flaskorna i flytande kväve i ångfas vid ca -150 till -196 °C. Förvaring vid -80 °C är acceptabelt endast som ett kort mellanliggande steg innan överföring till flytande kväve.

Leveransvillkor

Kryopreserverade cellinjer skickas på torris i validerade, isolerade förpackningar med tillräckligt med kylmedel för att hålla cirka -78 °C under hela transporten. Vid mottagandet ska behållaren omedelbart inspekteras och flaskorna utan dröjsmål överföras till lämplig förvaring.

DONATOR

Donatorns ålder	Vuxen
Etnicitet	Ej specificerat

JURIDISKA FRÅGOR OCH SÄKERHET

Säkerhetsföreskrifter

När man planerar att förvara en kryovial i flytande kväve för framtida upptining är det obligatoriskt att följa strikta säkerhetsåtgärder. Lämpliga skyddshandskar och skyddskläder är nödvändiga, och ansiktsmask eller skyddsglasögon måste användas vid överföring av frysta prover till eller från tanken med flytande kväve. Detta för att minska risken för skador på grund av eventuella explosioner i frysbehållaren vid borttagning, vilket kan leda till att vassa fragment projiceras.

Garanti

På Cytion står vi bakom våra produkters kvalitet och livskraft.
Vi garanterar att våra celler är livsdugliga vid odlingens början i 60 dagar efter leverans från våra anläggningar.
Vi försäkrar att allt material överensstämmer med de specifikationer som beskrivs i analyscertifikatet och/eller produktbladet
För fullständig information, se vår <a href=""/Who-we-are/Warranty/"" hreflang=""x-default"">Garantiförklaring

Avtal om materialöverföring krävs	Yes