hCMEC/D3

305024

GENERAL INFORMATION

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 của HCMEC/D3 trong việc hình thành một lớp đơn chặt chẽ với điện trở cao 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.

Tissue	Não, thùy 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
- human Cortical Microvessels Endothelial Cells/D3

CLASSIFICATION

Organism	Human
Sex	Female
Growth properties	Adherent
GMO status	GMO-S1

GMO status details

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

Biosafety level	1

CHARACTERISTICS

Morphology	Tương tự tế bào nội mô (kiểu đá lát)
Cell type	Tế bào nội mô
Doubling time	khoảng 24 đến 36 giờ

IDENTIFIERS

Citation

hCMEC/D3 (Số catalog Cytion 305024)

NCBI TaxID	9606
Cellosaurus	CVCL_U985

EXPRESSION AND SUSCEPTIBILITY

Viruses

Biến thể: Virus khỉ 40 (SV40)

HANDLING AND CULTURE

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)

Incubation atmosphere	37°C, 5%CO_2, môi trường ẩm.

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)

Subculturing

Loại bỏ môi trường nuôi cấy, rửa bằng PBS không chứa Ca^{2+}/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 × 10^4 tế bào/cm^2 vào các bình nuôi cấy được phủ collagen.

Split ratio	1 đến 3
Seeding density	1 đến 2 × 10^4 tế bào/cm^2 (trên bề mặt được phủ collagen I)
Fluid renewal	Cứ 1 đến 2 ngày một lần

Thawing and culturing

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.

QUALITY CONTROL AND CRYOPRESERVATION

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.

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 (số catalog Cytion 800100), bao gồm các chất bảo vệ thẩm thấu và chất ổn định chuyển hóa được tối ưu hóa để cải thiện khả năng phục hồi và giảm stress do đông lạnh gây ra.

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.

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.

DONOR

Donor age	Người lớn
Ethnicity	Không được chỉ định

LEGAL AND SAFETY

Safety precautions

Khi lập kế hoạch lưu trữ ống cryovial trong nitơ lỏng để rã đông sau này, việc tuân thủ các biện pháp an toàn nghiêm ngặt là bắt buộc. Găng tay và quần áo bảo hộ phù hợp là điều cần thiết, và việc sử dụng khẩu trang hoặc kính bảo hộ là bắt buộc trong quá trình chuyển mẫu đông lạnh vào hoặc ra khỏi bể nitơ lỏng. Điều này nhằm giảm thiểu nguy cơ chấn thương do nổ ống cryovial khi lấy ra, có thể dẫn đến việc văng ra các mảnh vỡ sắc nhọn.

Warranty

Tại Cytion, chúng tôi cam kết về chất lượng và khả năng sống của các sản phẩm của mình.
Chúng tôi đảm bảo rằng các tế bào của chúng tôi sẽ có khả năng sống tại thời điểm bắt đầu nuôi cấy trong
60 ngày kể từ khi vận chuyển từ cơ sở của chúng tôi.
Chúng tôi cam kết rằng tất cả các vật liệu tuân thủ các thông số kỹ thuật được mô tả trong
Giấy chứng nhận phân tích và/hoặc Tài liệu sản phẩm.
Để biết chi tiết đầy đủ, vui lòng tham khảo
<a href=""/Who-we-are/Warranty/"" hreflang=""x-default"">Tuyên bố Bảo hành.

Material Transfer Agreement required	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