

**Buňky HMEC-1 | 304064****Obecné informace****Description**

Buňky HMEC-1 neboli Human Microvascular Endothelial Cells-1 jsou imortalizovanou buněčnou linií odvozenou z lidských kožních mikrovaskulárních endoteliálních buněk. Tato buněčná linie byla vyvinuta pro usnadnění výzkumu funkce a patologie mikrovaskulárního endotelu. Buňky HMEC-1 jsou hojně využívány ve výzkumu cévní biologie díky své schopnosti zachovat si mnoho fenotypových a funkčních vlastností primárních endoteliálních buněk.

Buňky HMEC-1 vykazují typické markery endoteliálních buněk, jako jsou CD31 (PECAM-1), von Willebrandův faktor a VE-kadherin, a při kultivaci na vhodných matricích mohou vytvářet struktury podobné kapilárám, čímž napodobují angiogenezi in vitro. Díky tomu jsou obzvláště cenné pro studium angiogeneze, tvorby nových cév z již existujících cév, což je kritický proces jak ve fyziologických, tak patologických stavech, jako je hojení ran, růst rakoviny a kardiovaskulární onemocnění.

Tyto buňky se také používají ke zkoumání reakcí endotelových buněk na zánětlivé cytokiny, bariérové funkce endotelových vrstev a interakce mezi endotelovými buňkami a jinými typy buněk, jako jsou imunitní buňky. Buňky HMEC-1 lze geneticky manipulovat, což výzkumníkům umožňuje zkoumat vliv specifických genů na funkci endotelu a modelovat různá cévní onemocnění.

Buňky HMEC-1 navíc slouží jako modelový systém pro studium propustnosti endoteliálních bariér, což má zásadní význam v souvislosti s podáváním léčiv a patogenezí infekčních onemocnění, při nichž patogeny překračují endoteliální bariéry. Díky své univerzálnosti a snadnému použití je tato buněčná linie i nadále základním kamenem při studiu biologie a patologie mikrovaskulárních endoteliálních buněk.

**Organism** Člověk**Tissue** Kůže**Applications** Výzkumné studie lidských kožních endoteliálních buněk**Synonyms** Hmec-1, HMEC1, CDC/EU.HMEC-1, linie lidských mikrovaskulárních endoteliálních buněk-1**Charakteristika****Age** 1 měsíc**Gender** Muži**Morphology** Endotelu podobné**Growth properties** Adherentní**Regulační údaje**

**Buňky HMEC-1 | 304064**

<b>Citation</b>	HMEC-1 (katalogové číslo Cytion 304064)
<b>Biosafety level</b>	1
<b>NCBI_TaxID</b>	9606
<b>CellosaurusAccession</b>	CVCL_0307
<b>GMO Status</b>	GMO-S1: Tato linie lidských mikrovaskulárních endoteliálních buněk (HMEC-1) obsahuje konstrukt SV40 T-Antigen dodaný prostřednictvím vektoru pSVT, který umožňuje robustní proliferaci a imortalizaci. Konstrukt je stabilně integrován do endoteliálních buněk. Tato klasifikace platí pouze v Německu a jinde se může lišit.

**Biomolekulární data**

<b>Protein expression</b>	Von Willebrandův faktor (vWF), molekuly buněčné adheze ICAM-1
<b>Viruses</b>	Simian virus 40 (velký T antigen)

**Zpracování**

<b>Culture Medium</b>	Alpha MEM, w: 2,0 mM stabilní glutamin, w/o: Ribonukleosidy, w/o: Deoxyribonukleosidy, w: 1,0 mM Pyruvát sodný, w: 2,2 g/l NaHCO <sub>3</sub>
<b>Supplements</b>	Doplňte médium o 10 % FBS, 10 ng/ml epidermálního růstového faktoru, 1 mikrogram/ml hydrokortizonu, 10 mM glutaminu
<b>Dissociation Reagent</b>	Accutase
<b>Subculturing</b>	Odstraňte staré médium z adheovaných buněk a promyjte je PBS bez vápníku a hořčíku. Pro baňky T25 použijte 3-5 ml PBS a pro baňky T75 5-10 ml. Poté buňky zcela zakryjte přípravkem Accutase, přičemž použijte 1-2 ml pro baňky T25 a 2,5 ml pro baňky T75. Nechte buňky inkubovat při pokojové teplotě po dobu 8-10 minut, aby se oddělily. Po inkubaci jemně promíchejte buňky s 10 ml média, aby byly znovu suspendovány, a poté je odstředte při 300xg po dobu 3 minut. Supernatant vyhodte, buňky znovu rozpustte v čerstvém médiu a přeneste je do nových baněk, které již obsahují čerstvé médium.
<b>Split ratio</b>	1:6 až 1:12

**Buňky HMEC-1 | 304064****Freeze medium**

Jako kryokonzervační médium používáme kompletní růstové médium (včetně FBS) + 10 % DMSO pro zajištění dostatečné životaschopnosti po rozmrazení nebo CM-1 (katalogové číslo 800100 společnosti Cytion), které obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory pro zlepšení regenerace a snížení stresu způsobeného kryo.

**Thawing and Culturing Cells**

1. Ověřte si, že lahvička zůstane při dodání hluboce zmrazená, protože buňky se přepravují na suchém ledu, aby se během přepravy udržely optimální teploty.
2. Po obdržení kryovialku buď okamžitě uložte při teplotě nižší než -150 °C, abyste zajistili zachování buněčné integrity, nebo přejděte ke kroku 3, pokud je nutná okamžitá kultivace.
3. Pro okamžitou kultivaci rychle rozmrazte lahvičku ponořením do vodní lázně o teplotě 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálním prostředkem a jemně ji míchejte po dobu 40-60 sekund, dokud nezůstane malý ledový chuchvalec.
4. Všechny další kroky provádějte za sterilních podmínek v průtokové digestoři a před otevřením kryovialku dezinfikujte 70% ethanolem.
5. Opatrně otevřete dezinfikovanou lahvičku a přeneste buněčnou suspenzi do 15 ml centrifugační zkumavky obsahující 8 ml kultivačního média o pokojové teplotě a jemně promíchejte.
6. Směs odstředíte při 300 x g po dobu 3 minut, aby se buňky oddělily, a supernatant obsahující zbytky mrazicího média opatrně zlikvidujte.
7. Pelety buněk jemně resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačního média. U adherentních buněk rozdělíte suspenzi mezi dvě kultivační baňky T25; u suspenzních kultur přeneste veškeré médium do jedné baňky T25, abyste podpořili účinnou interakci a růst buněk.
8. Dodržujte zavedené subkultivační protokoly pro kontinuální růst a udržování buněčné linie, čímž zajistíte spolehlivé výsledky experimentů.

**Incubation Atmosphere**

37 °C, 5 %  $\text{CO}_2$ , zvlhčená atmosféra.

**Flask Coating**

Žádný

**Freezing Procedure**

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

## Buňky HMEC-1 | 304064

### Shipping Conditions

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

### Storage Conditions

Pro dlouhodobé uchování umístěte lahvičky do kapalného dusíku v plynné fázi při teplotě přibližně -150 až -196 °C. Skladování při -80 °C je přijatelné pouze jako krátký přechodný krok před přemístěním do kapalného dusíku.

## Kontrola kvality / Genetický profil / HLA

### Sterility

Kontaminace mykoplazmaty je vyloučena jak pomocí testů založených na PCR, tak pomocí luminiscenčních metod detekce mykoplazmy.

Aby se zajistilo, že nedojde ke kontaminaci bakteriemi, plísněmi nebo kvasinkami, jsou buněčné kultury denně podrobovány vizuálním kontrolám.