

HMEC-1 ląstelės | 304064**Bendra informacija****Description**

HMEC-1 ląstelės, arba Žmogaus mikrovaskulinės endotelio ląstelės-1, yra imortalizuota ląstelių linija, gauta iš žmogaus odos mikrovaskulinių endotelio ląstelių. Ši ląstelių linija buvo sukurta siekiant palengvinti mikrokraujagyslių endotelio funkcijos ir patologijos tyrimus. HMEC-1 ląstelės plačiai naudojamos kraujagyslių biologijos tyrimuose dėl jų gebėjimo išlaikyti daugelį pirminių endotelio ląstelių fenotipinių ir funkcinių savybių.

HMEC-1 ląstelės pasižymi tipiškais endotelio ląstelių žymenimis, tokiais kaip CD31 (PECAM-1), von Willebrando faktorius ir VE-kadherinas, o kultivuojamos ant tinkamų matricių jos gali formuoti kapiliarus primenančias struktūras, imituojančias angiogenezę in vitro. Dėl to jie ypač vertingi angiogenezės tyrimams, t. y. naujų kraujagyslių formavimuisi iš jau egzistuojančių kraujagyslių, kuris yra labai svarbus procesas tiek fiziologinėmis, tiek patologinėmis sąlygomis, pavyzdžiui, žaizdų gijimui, vėžio augimui ir širdies ir kraujagyslių ligoms.

Šios ląstelės taip pat naudojamos tiriant endotelio ląstelių atsaką į uždegiminius citokinus, endotelio sluoksnių barjerinę funkciją ir endotelio ląstelių sąveiką su kitų tipų ląstelėmis, pavyzdžiui, imuninėmis ląstelėmis. HMEC-1 ląsteles galima genetiškai manipuliuoti, todėl mokslininkai gali tirti konkrečių genų poveikį endotelio funkcijai ir modeliuoti įvairias kraujagyslių ligas.

Be to, HMEC-1 ląstelės yra modelinė sistema endotelio barjerų pralaidumui tirti, o tai labai svarbu vaistų pristatymo ir infekcinių ligų patogenezės kontekste, kai patogenai kerta endotelio barjerus. Dėl ląstelių linijos universalumo ir paprastumo naudoti ji ir toliau yra kertinis akmuo atliekant mikrovaskulinių endotelio ląstelių biologijos ir patologijos tyrimus.

Organism Žmogus**Tissue** Odos**Applications** Žmogaus odos endotelio ląstelių moksliniai tyrimai**Synonyms** Hmec-1, HMEC1, CDC/EU.HMEC-1, Žmogaus mikrovaskulinių endotelio ląstelių linija-1**Charakteristikos****Age** 1 mėnuo**Gender** Vyras**Morphology** | endotelį panašus**Growth properties** Prigludęs**Reguliavimo duomenys**

HMEC-1 ląstelės | 304064

Citation	HMEC-1 (Cytion katalogo numeris 304064)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_0307
GMO Status	GMO-S1: Šioje žmogaus mikrokraujagyslių endotelio ląstelių linijoje (HMEC-1) yra SV40 T-antigeno konstruktas, perduotas per pSVT vektorius, kuris užtikrina stiprų proliferaciją ir imortalizaciją. Konstruktas stabiliai integruotas į endotelio ląsteles. Ši klasifikacija taikoma tik Vokietijoje ir gali skirtis kitose šalyse.

Biomolekuliniai duomenys

Protein expression	Von Willebrando faktorius (vWF), ląstelių sukibimo molekulės ICAM-1
Viruses	Simian virusas 40 (didelis T antigenas)

Tvarkymas

Culture Medium	Alfa MEM, w: 2,0 mM stabilus glutaminas, w/o: Ribonukleozidai, w/o: Deoksiribonukleozidai, w: 1,0 mM natrio piruvatas, w: 2,2 g/l NaHCO ₃
Supplements	Papildykite terpę 10 % FBS, 10 ng/ml epidermio augimo faktoriaus, 1 mikrogramu/ml hidrokortizono, 10 mM glutamino
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Pašalinkite seną terpę nuo prilipusių ląstelių ir nuplaukite jas PBS, kuriame nėra kalcio ir magnio. T25 kolboms naudokite 3-5 ml PBS, o T75 kolboms - 5-10 ml. Tuomet visiškai užpilkite ląsteles "Accutase", naudodami 1-2 ml T25 kolboms ir 2,5 ml T75 kolboms. Leiskite ląstelėms inkubuotis kambario temperatūroje 8-10 minučių, kad jos atsiskirtų. Po inkubacijos atsargiai sumaišykite ląsteles su 10 ml terpės, kad jos vėl suspenduotų, tada 3 minutes centrifuguokite 300xg greičiu. Išmeskite supernatantą, vėl sutirpinkite ląsteles šviežioje terpėje ir perkeltkite jas į naujas kolbas, kuriose jau yra šviežia terpė.
Freeze medium	Kaip kriokonservavimo terpę naudojame visišką augimo terpę (įskaitant FBS) + 10 % DMSO, kad būtų užtikrintas tinkamas gyvybingumas po atšildymo, arba CM-1 (Cytion katalogo numeris 800100), kurioje yra optimizuotų osmoprotektorių ir medžiagų apykaitos stabilizatorių, kad būtų pagerintas atsigavimas ir sumažintas kriokonservavimo sukeltas stresas.

HMEC-1 ląstelės | 304064

Thawing and Culturing Cells

1. Patikrinkite, ar pristatant buteliuką jis išlieka gerai užšaldytas, nes ląstelės gabenamos ant sauso ledo, kad gabenimo metu būtų palaikoma optimali temperatūra.
2. Gavę iš karto laikykite kriovialą žemesnėje nei $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ temperatūroje, kad užtikrintumėte ląstelių vientisumo išsaugojimą, arba pereikite prie 3 veiksmo, jei reikia nedelsiant kultivuoti.
3. Jei norite nedelsiant pradėti kultivuoti, greitai atšildykite buteliuką panardindami jį į $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ temperatūros vandens vonelę su švariu vandeniu ir antimikrobine priemone, švelniai maišydami 40-60 sekundžių, kol liks nedidelis ledo gabalėlis.
4. Visus tolesnius veiksmus atlikite steriliomis sąlygomis srauto gaubte, prieš atidarydami kriovialą dezinfekuokite jį 70 % etanoliu.
5. Atsargiai atidarykite dezinfekuotą buteliuką ir perpilkite ląstelių suspensiją į 15 ml centrifugos mėgintuvėlį, kuriame yra 8 ml kambario temperatūros mitybinės terpės, atsargiai išmaišykite.
6. Mišinį centrifuguokite 300 x g greičiu 3 minutes, kad atsiskirtų ląstelės, ir atsargiai išmeskite supernatantą su šaldymo terpės likučiais.
7. Švelniai resuspenduokite ląstelių granules 10 ml šviežios mitybinės terpės. Jei ląstelės yra prigludusios, suspensiją padalykite į dvi T25 kolbas; jei tai suspensinės kultūros, visą terpę perkelkite į vieną T25 kolbą, kad paskatintumėte veiksmingą ląstelių sąveiką ir augimą.
8. Laikykitės nustatytų subkultūrų protokolų, kad ląstelių linija nuolat augtų ir būtų palaikoma, taip užtikrinant patikimus eksperimentų rezultatus.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5 % CO_2 , drėkintoje atmosferoje.

Flask Coating

Kad po atšildymo būtų užtikrintas optimalus prisitvirtinimas ir gyvybingumas, rekomenduojame naudoti **kolagenu dengtas kolbas arba plokšteles**.

Freezing Procedure

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelkite mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

HMEC-1 ląstelės | 304064

Shipping Conditions

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelkite mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

Storage Conditions

Norėdami ilgai saugoti, įdėkite buteliukus į garų fazės skystą azotą maždaug $-150\text{--}196\text{ }^{\circ}\text{C}$ temperatūroje. Laikymas $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ temperatūroje yra priimtinas tik kaip trumpas tarpinis etapas prieš perkeliant į skystą azotą.

Kokybės kontrolė / Genetinis profilis / HLA

Sterility

Mikoplazmos užterštumas atmetamas taikant PGR pagrįstus tyrimus ir liuminescencinius mikoplazmos aptikimo metodus.

Siekiant užtikrinti, kad nebūtų užteršimo bakterijomis, grybeliais ar mielėmis, ląstelių kultūros kasdien vizualiai tikrinamos.