

Komórki EA.hy926 | 305034**Informacje ogólne****Description**

Komórki EA.hy926 to somatyczna hybrydowa linia komórkowa szeroko stosowana w badaniach nad chorobami układu krążenia. Są one wykorzystywane do badania różnych aspektów funkcji komórek śródbłonka związanych z angiogenezą, homeostazą/zakrzepicą, regulacją ciśnienia krwi i stanem zapalnym.

Cytoplazmatyczne rozmieszczenie ciałek Weibela-Palade'a i organelli specyficznych dla tkanek w komórkach EA.hy926, obserwowane na fotomikrografiach elektronowych, odzwierciedla ich zróżnicowane funkcje komórek śródbłonka. Jedną z kluczowych zalet komórek EA.hy926 jest ich zdolność do przejścia ponad 100 podwojeń populacji (PDL) przy jednoczesnym zachowaniu ich właściwości komórkowych.

Ta długowieczność zapewnia trwałe i spójne źródło komórek do długoterminowych eksperymentów i badań. Przy czasie podwojenia wynoszącym 12 godzin, komórki te wykazują szybką proliferację, ułatwiając eksperymentalne przepływy pracy i umożliwiając wydajne generowanie ilości komórek wymaganych do badań na dużą skalę.

Komórki EA.hy926 okazały się przetomowe w badaniach nad układem sercowo-naczyniowym, szczególnie w oczyszczaniu enzymu konwertującego endotelinę (ECE). Tradycyjnie uzyskanie pierwotnych komórek śródbłonka w znacznych ilościach stanowiło wyzwanie, utrudniając uświadczenie ECE.

Jednak komórki EA.hy926, pochodzące z transformowanych ludzkich komórek śródbłonka żyły pępowinowej, stały się niezawodną alternatywą do badania aktywności ECE. Ten przetom otworzył nowe możliwości badania roli ECE w chorobach sercowo-naczyniowych i opracowywania potencjalnych interwencji terapeutycznych.

Organism

Człowiek

Tissue

Żyła pępowinowa, śródbłonek naczyniowy

Synonyms

EA. hy 926, EA hy 926, EA-hy926, EAhy 926, EAHY-926, EA.Hy926, EA.hy926, EAhy926, EaHy926, Eahy926

Charakterystyka**Gender**

Męczyzna

Morphology

Śródbłonek

Growth properties

Adherent

Dane regulacyjne**Citation**

EA.hy926 (numer katalogowy Cytion 305034)

Biosafety level

1

Komórki EA.hy926 | 305034**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_3901**Dane biomolekularne****Obsługa****Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/l glukozy, w: 4 mM L-glutaminy, w: 3,7 g/l NaHCO₃, w: 1,0 mM pirogronianu sodu (numer artykułu Cytion 820300a)**Supplements** Uzuppełnić podłoże 10% FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Doubling time** 12 godzin**Subculturing** Usuń starą pożywkę z przylegających komórek i przemyj je PBS, który nie zawiera wapnia i magnezu. W przypadku kolb T25 należy użyć 3-5 ml PBS, a w przypadku kolb T75 5-10 ml. Następnie całkowicie pokryj komórki Accutase, używając 1-2 ml dla kolb T25 i 2,5 ml dla kolb T75. Pozwól komórkom inkubować w temperaturze pokojowej przez 8-10 minut, aby je oddzielić. Po inkubacji delikatnie wymieszaj komórki z 10 ml pożywki, aby ponownie je zawiesić, a następnie odwiruj przy 300xg przez 3 minuty. Odrzuć supernatant, ponownie zawiesić komórki w świeżej pożywce i przenieść je do nowych kolb zawierających już świeżą pożywkę.**Split ratio** 1:2 do 1:4**Fluid renewal** 2 do 3 razy w tygodniu**Freeze medium** Jako pożywki do kriokonserwacji używamy kompletnej pożywki wzrostowej (w tym FBS) + 10% DMSO w celu zapewnienia odpowiedniej żywotności po rozmrożeniu lub CM-1 (numer katalogowy Cytion 800100), która zawiera zoptymalizowane osmoprotektanty i stabilizatory metaboliczne w celu zwiększenia regeneracji i zmniejszenia stresu wywołanego kriokonserwacją.

Komórki EA.hy926 | 305034**Thawing and
Culturing Cells**

1. Upewnij się, że fiolka pozostaje głęboko zamrożona w momencie dostawy, ponieważ komórki są wysyłane w suchym lodzie, aby utrzymać optymalną temperaturę podczas transportu.
2. Po otrzymaniu należy natychmiast przechowywać fiolkę w temperaturze poniżej -150°C , aby zapewnić zachowanie integralności komórek, lub przejść do kroku 3, jeśli wymagana jest natychmiastowa hodowla.
3. W przypadku natychmiastowej hodowli należy szybko rozmrozić fiolkę, zanurzając ją w łaźni wodnej o temperaturze 37°C z czystą wodą i środkiem przeciwdrobnoustrojowym, delikatnie mieszając przez 40-60 sekund, aż pozostanie niewielka grudka lodu.
4. Wykonaj wszystkie kolejne kroki w sterylnych warunkach w kapturze przepływowej, dezynfekując fiolkę 70% etanolem przed otwarciem.
5. Ostrożnie otworzyć zdezynfekowaną fiolkę i przenieść zawiesinę komórek do 15 ml probówki wirówkowej zawierającej 8 ml podłoża hodowlanego o temperaturze pokojowej, delikatnie mieszając.
6. Wirować mieszaninę z prędkością $300 \times g$ przez 3 minuty w celu oddzielenia komórek i ostrożnie odrzucić supernatant zawierający pozostałości pożywki do zamrażania.
7. Delikatnie ponownie zawiesić osad komórek w 10 ml świeżego podłoża hodowlanego. W przypadku komórek przylegających, rozdzielić zawiesinę pomiędzy dwie kolby hodowlane T25; w przypadku hodowli zawieszonych, przenieść całą pożywkę do jednej kolby T25 w celu promowania skutecznej interakcji i wzrostu komórek.
8. Przestrzegaj ustalonych protokołów podhodowli w celu ciągłego wzrostu i utrzymania linii komórkowej, zapewniając wiarygodne wyniki eksperymentów.

**Incubation
Atmosphere**

37°C , 5% CO_2 , nawilżona atmosfera.

Flask Coating

Brak

**Freezing
Procedure**

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 czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Komórki EA.hy926 | 305034

Shipping Conditions

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 fiołki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Storage Conditions

W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiołki 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.

Kontrola jakości / Profil genetyczny / HLA

Sterility

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.

Profil STR

Amelogenin: x,x
CSF1PO: 10,11,12
D13S317: 11
D16S539: 11,12
D5S818: 11
D7S820: 8,9,10
TH01: 6,8,9,3
TPOX: 8,9
vWA: 14,17
D3S1358: 15,16
D21S11: 28,29,32
D18S51: 13,15,17
Penta E: 7,11,12
Penta D: 9,11
D8S1179: 13
FGA: 22,23
D6S1043: 11,12,22
D2S1338: 22,24
D12S391: 15,18
D19S433: 13,14