

Bunky HMEC-1 | 304064**Všeobecné informácie****Description**

Bunky HMEC-1 alebo Human Microvascular Endothelial Cells-1 sú immortalizované bunkové línie odvodené z ľudských kožných mikrovaskulárnych endotelových buniek. Táto bunková línia bola vyvinutá na uľahčenie výskumu funkcie a patológie mikrovaskulárneho endotelu. Bunky HMEC-1 sa vo veľkej miere používajú vo výskume cievnej biológie vďaka svojej schopnosti zachovať si mnohé fenotypové a funkčné vlastnosti primárnych endotelových buniek.

Bunky HMEC-1 vykazujú typické markery endotelových buniek, ako sú CD31 (PECAM-1), von Willebrandov faktor a VE-kadherín, a pri kultivácii na vhodných matriciach môžu vytvárať štruktúry podobné kapiláram, čím napodobňujú angiogénu in vitro. To ich robí obzvlášť cennými pre štúdie angiogenézy, tvorby nových ciev z už existujúcich ciev, čo je kritický proces vo fyziologických aj patologických stavoch, ako je hojenie rán, rast rakoviny a kardiovaskulárne ochorenia.

Tieto bunky sa používajú aj na skúmanie reakcií endotelových buniek na zápalové cytokíny, bariérovej funkcie endotelových vrstiev a interakcie medzi endotelovými bunkami a inými typmi buniek, ako sú imunitné bunky. Bunky HMEC-1 sa dajú geneticky manipulovať, čo umožňuje výskumníkom skúmať vplyv špecifických génov na funkciu endotelu a modelovať rôzne cievne ochorenia.

Okrem toho bunky HMEC-1 slúžia ako modelový systém na štúdium priepustnosti endotelových bariér, čo má zásadný význam v súvislosti s dodávaním liekov a patogenézou infekčných ochorení, pri ktorých patogény prekonávajú endotelové bariéry. Univerzálnosť a jednoduchosť použitia tejto bunkovej línie z nej naďalej robia základný kameň v štúdiách biológie a patológie mikrovaskulárnych endotelových buniek.

Organism Ľudské**Tissue** Koža**Applications** Výskumné štúdie týkajúce sa ľudských kožných endotelových buniek**Synonyms** Hmec-1, HMEC1, CDC/EU.HMEC-1, línia ľudských mikrovaskulárnych endotelových buniek-1**Charakteristika****Age** 1 mesiac**Gender** Muži**Morphology** Endotelu podobné**Growth properties** Adherent**Regulačné údaje**

Bunky HMEC-1 | 304064

Citation	HMEC-1 (katalógové číslo Cytion 304064)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_0307
GMO Status	GMO-S1: Táto línia ľudských mikrovaskulárnych endotelových buniek (HMEC-1) obsahuje konštrukt SV40 T-Antigen dodaný prostredníctvom vektora pSVT, ktorý umožňuje robustnú proliferáciu a imortalizáciu. Konštrukt je stabilne integrovaný do endotelových buniek. Táto klasifikácia platí len v Nemecku a môže sa líšiť v iných krajinách.

Biomolekulárne údaje

Protein expression	Von Willebrandov faktor (vWF), molekuly bunkovej adhézie ICAM-1
Viruses	Simian vírus 40 (veľký T antigén)

Spracovanie

Culture Medium	Alpha MEM, w: 2,0 mM stabilný glutamín, w/o: Ribonukleozidy, w/o: Deoxyribonukleozidy, w: 1,0 mM Pyruvát sodný, w: 2,2 g/l NaHCO ₃
Supplements	Doplňte médium o 10 % FBS, 10 ng/ml epidermálneho rastového faktora, 1 mikrogram/ml hydrokortizónu, 10 mM glutamínu
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Odstráňte staré médium z adherovaných buniek a premyte ich PBS, ktorý neobsahuje vápnik a horčík. Pre banky T25 použite 3 - 5 ml PBS a pre banky T75 použite 5 - 10 ml. Potom bunky úplne pokryte Accutase, pričom použite 1 - 2 ml pre banky T25 a 2,5 ml pre banky T75. Nechajte bunky inkubovať pri izbovej teplote 8-10 minút, aby sa oddelili. Po inkubácii jemne premiešajte bunky s 10 ml média, aby boli znovu suspendované, a potom ich 3 minúty odstredujte pri 300xg. Supernatant zlikvidujte, bunky znovu rozmiešajte v čerstvom médiu a preneste ich do nových fliaš, ktoré už obsahujú čerstvé médium.
Freeze medium	Ako kryokonzervačné médium používame kompletne rastové médium (vrátane FBS) + 10 % DMSO na zabezpečenie primeranej životaschopnosti po rozmrazení alebo CM-1 (katalógové číslo 800100 spoločnosti Cytion), ktoré obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory na zlepšenie regenerácie a zníženie stresu spôsobeného kryom.

Bunky HMEC-1 | 304064

Thawing and Culturing Cells

1. Overte si, že injekčná liekovka zostane pri doručení hlboko zmrazená, pretože bunky sa prepravujú na suchom ľade, aby sa počas prepravy udržala optimálna teplota.
2. Po prijatí buď okamžite uskladnite kryovialku pri teplote nižšej ako $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, aby ste zabezpečili zachovanie bunkovej integrity, alebo prejdite na krok 3, ak je potrebná okamžitá kultivácia.
3. V prípade okamžitej kultivácie injekčnú liekovku rýchlo rozmrazte ponorením do vodného kúpeľa s teplotou $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ s čistou vodou a antimikrobiálnym prostriedkom, pričom ju jemne miešajte 40 - 60 sekúnd, kým nezostane malý ľadový chumáč.
4. Všetky ďalšie kroky vykonajte v sterilných podmienkach v prietokovom digestore a pred otvorením kryovialku dezinfikujte 70 % etanolom.
5. Opatrne otvorte dezinfikovanú fľaštičku a preneste bunkovú suspenziu do 15 ml centrifugačnej skúmavky obsahujúcej 8 ml kultivačného média s izbovou teplotou a jemne premiešajte.
6. Zmes odstreďujte pri $300 \times g$ počas 3 minút, aby sa bunky oddelili, a opatrne zlikvidujte supernatant obsahujúci zvyšky zmrazovacieho média.
7. Pelet buniek jemne resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačného média. V prípade adherentných buniek rozdeľte suspenziu medzi dve kultivačné banky T25; v prípade suspenzných kultúr preneste všetko médium do jednej banky T25, aby ste podporili účinnú interakciu a rast buniek.
8. Dodržiavajte zavedené subkultivačné protokoly na nepretržitý rast a udržiavanie bunkovej línie, čím sa zabezpečia spoľahlivé výsledky experimentov.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5 % CO_2 , zvlhčená atmosféra.

Flask Coating

Žiadne

Freezing Procedure

Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

Shipping Conditions

Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

Bunky HMEC-1 | 304064

Storage Conditions

Na dlhodobé uchovávanie umiestnite injekčné liekovky do kvapalnej fázy dusíka v pare pri teplote približne -150 až -196 °C. Skladovanie pri teplote -80 °C je prijateľné len ako krátky prechodný krok pred presunom do tekutého dusíka.

Kontrola kvality / Genetický profil / HLA

Sterility

Kontaminácia mykoplazmami sa vylučuje pomocou testov založených na PCR a metód detekcie mykoplazmiem založených na luminiscencii.

Aby sa zabezpečilo, že nedošlo ku kontaminácii baktériami, hubami alebo kvasinkami, bunkové kultúry sa denne vizuálne kontrolujú.