

Клетки HCE-T | 305255

Обща информация

Description

HCE-T е трансформирана с SV40 клетъчна линия от човешки роговичен епител, получена от първичен човешки роговичен епител. Линията е създадена чрез инфектиране с рекомбинантен хибриден вектор SV40-аденовирус (Ad-SV40), което позволява стабилна експресия на големия T-антиген на SV40 и непрекъсната пролиферация. Първоначалната характеристика имаше за цел конкретно да се създаде непрекъснато растяща клетъчна линия от роговичен епител, която не отделя свободни вирусни частици.

В култура HCE-T клетките показват типична епителна „каменна“ морфология и растат като адхезивни монослоеве. Докладвани са ултраструктурни епителни характеристики като десмосоми и апикални микровили, а клетките са описани като продуциращи свързан с роговицата 64 kD кератин. При подходящи условия на диференциация (напр. култура на границата въздух-течност върху колаген), HCE-T клетките могат да образуват многослойни, стратифицирани структури и да развият измерими бариерни свойства, което подкрепя тяхното използване в изследванията на очната повърхност.

HCE-T клетките се използват широко за изучаване на бариерната функция на роговичния епител, пропускливостта и ефектите на формулировките, процесите, свързани с миграцията/възстановяването, и клетъчните реакции към възпалителни или дразнещи стимули. Въпреки това, моделите на експресия на транспортерите и профили на маркерите за диференциация могат да се различават от тези на естествената човешка роговица и от първичните лимбални/роговични епителни системи. Следователно HCE-T е най-подходящ за механистични и сравнителни *in vitro* проучвания, докато директната количествена екстраполация към *in vivo* абсорбцията на човешката роговица или биологията на роговичната диференциация трябва да се извършва с повишено внимание.

Organism

Човек

Tissue

Око, роговица, епител

Synonyms

HCE-T, Трансформирани човешки роговични епителни клетки, HCE, SV40-HCEC

Характеристики

Age

49 години

Gender

Жена

Ethnicity

Японски

Morphology

Епителиален

Cell type

Епителна клетка

Клетки HCE-T | 305255

Growth properties

Придържачи се

Регулаторни данни

Citation HCE-T (каталожен номер 305255 на Cytion)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_1272**GMO Status** GMO-S1: Тази човешка епителна клетъчна линия на роговицата (HCE-T) съдържа конструктор с ранен регион на SV40 (RSV-T / pRSV-T вектор), който позволява безсмъртие. Вложката е стабилно интегрирана в първични човешки роговични епителни клетки. Тази класификация се прилага само в Германия и може да се различава в други страни.

Биомолекулярни данни

Viruses Трансформатор: плазмид RSV-T (pRSV-T). Този плазмид е ори-конструкция на SV40, съдържаща гените на ранния регион на SV40 и дългия терминален повтор на Rous sarcoma virus.**Products** Кератин (64kD)

Работа с

Culture Medium DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/L глюкоза, w: 2,5 mM L-глутамин, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM натриев пируват, w: 1,2 g/L NaHCO₃ (номер на изделието на Cytion 820400a)**Supplements** Допълнете средата с 5% FBS, 1% ITS (0,625 mg/ml човешки инсулин, 0,625 mg/ml човешки трансферин, 0,625 микрограма/ml натриев селенит, 0,535 mg/ml линолова киселина, 125 mg/ml BSA) и 10 ng/ml човешки EGF**Dissociation Reagent** Accutase

Клетки HCE-T | 305255

Subculturing

Отстранете старата среда от адхезивните клетки и ги промийте с PBS, която не съдържа калций и магнезий. За колби T25 използвайте 3-5 ml PBS, а за колби T75 - 5-10 ml. След това покрийте клетките изцяло с Accutase, като използвате 1-2 ml за колби T25 и 2,5 ml за колби T75. Оставете клетките да се инкубират на стайна температура за 8-10 минути, за да се отделят. След инкубацията внимателно разбъркайте клетките с 10 ml среда, за да ги ресуспендирайте, след което центрофугирайте при 300xg за 3 минути. Изхвърлете супернатантата, ресуспендирайте клетките в прясна среда и ги прехвърлете в нови колби, които вече съдържат прясна среда.

Freeze medium

Като среда за криоконсервация използваме пълна среда за растеж (включително FBS) + 10% DMSO за адекватна жизнеспособност след размразяване или CM-1 (каталожен номер 800100 на Cytion), която включва оптимизирани осмопротектори и метаболитни стабилизатори за подобряване на възстановяването и намаляване на криоиндуцирания стрес.

Thawing and Culturing Cells

1. Уверете се, че флаконът остава дълбоко замразен при доставката, тъй като клетките се транспортират със сух лед, за да се поддържат оптимални температури по време на транспортирането.
2. При получаване или съхранявайте незабавно криовиолата при температури под $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, за да осигурите запазване на клетъчната цялост, или преминете към стъпка 3, ако е необходимо незабавно култивиране.
3. За незабавно култивиране бързо размразете флакона, като го потопите във водна баня с чиста вода и антимикробен агент с температура $37\text{ }^{\circ}\text{C}$, като разбърквате внимателно в продължение на 40-60 секунди, докато остане малка ледена бучка.
4. Извършвайте всички следващи стъпки при стерилни условия в аспиратор, като преди отваряне дезинфекцирате криовиолата със 70% етанол.
5. Внимателно отворете дезинфекцирания флакон и прехвърлете клетъчната суспензия в 15 ml центрофужна епруветка, съдържаща 8 ml хранителна среда със стайна температура, като разбърквате внимателно.
6. Центрофугирайте сместа при 300 x g в продължение на 3 минути, за да отделите клетките, и внимателно изхвърлете супернатантата, съдържаща остатъчна замразяваща среда.
7. Внимателно ресуспендирайте клетъчната пелета в 10 ml прясна хранителна среда. За адхезивни клетки разделете суспензията между две колби T25; за суспензионни култури прехвърлете цялата среда в една колба T25, за да стимулирате ефективното взаимодействие и растеж на клетките.
8. Придържайте се към установените протоколи за субкултивиране за непрекъснат растеж и поддържане на клетъчната линия, като гарантирате надеждни експериментални резултати.

Клетки HCE-T | 305255

Incubation Atmosphere 37°C, 5% CO₂, овлажнена атмосфера.

Flask Coating Няма

Freezing Procedure Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително -78 °C по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

Shipping Conditions Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително -78 °C по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

Storage Conditions За дълготрайно съхранение поставете флаконите в течен азот в парна фаза при температура около -150 до -196 °C. Съхранението при -80 °C е приемливо само като кратък междинен етап преди прехвърлянето в течен азот.

Контрол на качеството / Генетичен профил / HLA

Sterility Замърсяването с микоплазма се изключва както чрез PCR-базирани анализи, така и чрез луминесцентни методи за откриване на микоплазма.

За да се гарантира, че няма бактериално, гъбично или дрождево замърсяване, клетъчните култури се подлагат на ежедневни визуални проверки.