

Κύτταρα HCE-T | 305255

Γενικές πληροφορίες

Description

Η HCE-T είναι μια σειρά ανθρώπινων επιθηλιακών κυττάρων του κερατοειδούς που έχουν μετασχηματιστεί με τον ιό SV40 και προέρχονται από πρωτογενές ανθρώπινο επιθήλιο του κερατοειδούς. Η σειρά δημιουργήθηκε μέσω μόλυνσης με έναν ανασυνδυασμένο υβριδικό φορέα SV40-αδενοϊού (Ad-SV40), ο οποίος επιτρέπει τη σταθερή έκφραση του μεγάλου T-αντιγόνου του SV40 και τη συνεχή πολλαπλασιασμό. Ο αρχικός χαρακτηρισμός είχε ως συγκεκριμένο στόχο τη δημιουργία μιας σειράς επιθηλιακών κυττάρων του κερατοειδούς που αναπτύσσεται συνεχώς χωρίς να εκλύει ελεύθερα ιικά σωματίδια.

Σε καλλιέργεια, τα κύτταρα HCE-T παρουσιάζουν τυπική επιθηλιακή μορφολογία «κυβόλιθου» και αναπτύσσονται ως προσκολλημένα μονοστρωματικά κύτταρα. Έχουν αναφερθεί υπερδομικά επιθηλιακά χαρακτηριστικά, όπως δεσμοσώματα και κορυφαίες μικροβίλλες, και τα κύτταρα έχουν περιγραφεί ως παραγωγοί κερατίνης 64 kD που σχετίζεται με τον κερατοειδή. Υπό κατάλληλες συνθήκες διαφοροποίησης (π.χ. καλλιέργεια διεπαφής αέρα-υγρού σε κολλαγόνο), τα κύτταρα HCE-T μπορούν να σχηματίσουν πολυστρωματικές, στρωματοποιημένες δομές και να αναπτύξουν μετρήσιμες ιδιότητες φραγμού, υποστηρίζοντας τη χρήση τους στην έρευνα της οφθαλμικής επιφάνειας.

Τα κύτταρα HCE-T χρησιμοποιούνται ευρέως για τη μελέτη της λειτουργίας του επιθηλιακού φραγμού του κερατοειδούς, της διαπερατότητας και των επιδράσεων των σκευασμάτων, των διαδικασιών που σχετίζονται με τη μετανάστευση/επανόρθωση, καθώς και των κυτταρικών αποκρίσεων σε φλεγμονώδη ή ερεθιστικά ερεθίσματα. Ωστόσο, τα πρότυπα έκφρασης των μεταφορέων και τα προφίλ των δεικτών διαφοροποίησης μπορεί να διαφέρουν από τον φυσικό ανθρώπινο κερατοειδή και από τα πρωτογενή συστήματα του επιθηλίου του κερατοειδούς και του λιμπού. Επομένως, τα HCE-T είναι πιο κατάλληλα για μηχανιστικές και συγκριτικές in vitro μελέτες, ενώ η άμεση ποσοτική εξάπλωση στην in vivo απορρόφηση του ανθρώπινου κερατοειδούς ή στη βιολογία της διαφοροποίησης του κερατοειδούς πρέπει να πραγματοποιείται με προσοχή.

Organism

Ανθρώπινο

Tissue

Μάτι, κερατοειδής, επιθήλιο

Synonyms

HCET, Ανθρώπινα επιθηλιακά κύτταρα κερατοειδούς-μετασχηματισμένα, HCE, SV40-HCEC

Χαρακτηριστικά

Age

49 χρόνια

Gender

Γυναίκα

Ethnicity

Ιαπωνικά

Morphology

Επιθηλιακό

Cell type

Επιθηλιακό κύτταρο

Κύτταρα HCE-T | 305255

Growth properties

Προσκολλημένο

Ρυθμιστικά δεδομένα

Citation HCE-T (αριθμός καταλόγου Cytion 305255)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_1272**GMO Status** ΓΤΟ-S1: Αυτή η σειρά ανθρώπινων επιθηλιακών κυττάρων κερατοειδούς (HCE-T) περιέχει μια κατασκευή πρώιμης περιοχής SV40 (φορέας RSV-T / pRSV-T), που επιτρέπει την αθανασία. Το ένθετο ενσωματώνεται σταθερά σε πρωτογενή ανθρώπινα επιθηλιακά κύτταρα κερατοειδούς. Αυτή η ταξινόμηση ισχύει μόνο εντός της Γερμανίας και ενδέχεται να διαφέρει αλλού.

Βιομοριακά δεδομένα

Viruses Μετασηματιστής: πλασμίδιο RSV-T (pRSV-T). Αυτό το πλασμίδιο είναι ένα SV40 ori-construct που περιέχει τα γονίδια της πρώιμης περιοχής SV40 και τη μακρά τελική επανάληψη του ιού του σαρκώματος Rous.**Products** Κερατίνη (64kD)

Χειρισμός

Culture Medium DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/L γλυκόζη, w: 2,5 mM L-γλουταμίνη, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM πυρουβικό νάτριο, w: 1,2 g/L NaHCO₃ (αριθμός άρθρου Cytion 820400a)**Supplements** Συμπληρώστε το μέσο με 5% FBS, 1% ITS (0,625 mg/mL ανθρώπινη ινσουλίνη, 0,625 mg/mL ανθρώπινη τρανσφερίνη, 0,625 μικρογραμμάρια/ml σεληνίτη νατρίου, 0,535 mg/mL λινολεϊκό οξύ, 125 mg/mL BSA) και 10 ng/mL ανθρώπινο EGF**Dissociation Reagent** Accutase

Κύτταρα HCE-T | 305255**Subculturing**

Αφαιρέστε το παλιό μέσο από τα προσκολλημένα κύτταρα και πλύντε τα με PBS που δεν περιέχει ασβέστιο και μαγνήσιο. Για φιάλες T25, χρησιμοποιήστε 3-5 ml PBS και για φιάλες T75, χρησιμοποιήστε 5-10 ml. Στη συνέχεια, καλύψτε πλήρως τα κύτταρα με Accutase, χρησιμοποιώντας 1-2 ml για φιάλες T25 και 2,5 ml για φιάλες T75. Αφήστε τα κύτταρα να επωαστούν σε θερμοκρασία δωματίου για 8-10 λεπτά για να αποκολληθούν. Μετά την επώαση, αναμείξτε απαλά τα κύτταρα με 10 ml μέσου για να ανασυσταθούν και, στη συνέχεια, φυγοκεντρίστε στα 300xg για 3 λεπτά. Απορρίψτε το υπερκείμενο υγρό, ανασυστάστε τα κύτταρα σε φρέσκο μέσο και μεταφέρετέ τα σε νέες φιάλες που περιέχουν ήδη φρέσκο μέσο.

Freeze medium

Ως μέσο κρυοσυντήρησης, χρησιμοποιούμε πλήρες μέσο ανάπτυξης (συμπεριλαμβανομένου του FBS) + 10% DMSO για επαρκή βιωσιμότητα μετά την απόψυξη, ή CM-1 (αριθμός καταλόγου Cytion 800100), το οποίο περιλαμβάνει βελτιστοποιημένα ωσμοπροστατευτικά και μεταβολικούς σταθεροποιητές για την ενίσχυση της ανάκαμψης και τη μείωση του στρες που προκαλείται από την κρυοσυντήρηση.

Thawing and Culturing Cells

1. Επιβεβαιώστε ότι το φιαλίδιο παραμένει βαθιά παγωμένο κατά την παράδοση, καθώς τα κύτταρα αποστέλλονται σε ξηρό πάγο για να διατηρούνται οι βέλτιστες θερμοκρασίες κατά τη μεταφορά.
2. Κατά την παραλαβή, είτε αποθηκεύστε το κρυοφιαλίδιο αμέσως σε θερμοκρασίες κάτω των -150°C για να διασφαλίσετε τη διατήρηση της κυτταρικής ακεραιότητας, είτε προχωρήστε στο βήμα 3 εάν απαιτείται άμεση καλλιέργεια.
3. Για άμεση καλλιέργεια, αποψύξτε γρήγορα το φιαλίδιο βυθίζοντάς το σε υδατόλουτρο 37°C με καθαρό νερό και αντιμικροβιακό παράγοντα, αναδεύοντας απαλά για 40-60 δευτερόλεπτα μέχρι να παραμείνει ένα μικρό σβόλο πάγου.
4. Εκτελέστε όλα τα επόμενα βήματα υπό αποστειρωμένες συνθήκες σε απορροφητήρα ροής, απολυμαίνοντας το κρυοφιαλίδιο με 70% αιθανόλη πριν από το άνοιγμα.
5. Ανοίξτε προσεκτικά το απολυμασμένο φιαλίδιο και μεταφέρετε το εναιώρημα των κυττάρων σε ένα σωληνάριο φυγοκέντρησης των 15 ml που περιέχει 8 ml θρεπτικού μέσου καλλιέργειας σε θερμοκρασία δωματίου, αναμειγνύοντας απαλά.
6. Φυγοκεντρίστε το μείγμα στα 300 x g για 3 λεπτά για να διαχωριστούν τα κύτταρα και απορρίψτε προσεκτικά το υπερκείμενο που περιέχει το υπόλοιπο μέσο κατάψυξης.
7. Επανασυσσωματώστε απαλά το κυτταρικό σφαιρίδιο σε 10 ml φρέσκου μέσου καλλιέργειας. Για προσκολλημένα κύτταρα, μοιράστε το εναιώρημα σε δύο φιάλες καλλιέργειας T25- για καλλιέργειες εναιωρήματος, μεταφέρετε όλο το μέσο σε μία φιάλη T25 για να προωθήσετε την αποτελεσματική αλληλεπίδραση και ανάπτυξη των κυττάρων.
8. Τηρείτε τα καθιερωμένα πρωτόκολλα υποκαλλιέργειας για τη συνεχή ανάπτυξη και διατήρηση της κυτταρικής σειράς, εξασφαλίζοντας αξιόπιστα πειραματικά αποτελέσματα.

Κύτταρα HCE-T | 305255

Incubation Atmosphere 37°C, 5% CO_2 , υγροποιημένη ατμόσφαιρα.

Flask Coating Κανένα

Freezing Procedure Οι κρυοσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των -78 °C καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.

Shipping Conditions Οι κρυοσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των -78 °C καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.

Storage Conditions Για μακροχρόνια συντήρηση, τοποθετήστε τα φιαλίδια σε υγρό άζωτο σε φάση ατμών σε θερμοκρασία περίπου -150 έως -196 °C. Η αποθήκευση στους -80 °C είναι αποδεκτή μόνο ως σύντομο ενδιάμεσο βήμα πριν από τη μεταφορά σε υγρό άζωτο.

Ποιοτικός έλεγχος / Γενετικό προφίλ / HLA

Sterility Η μόλυνση από μυκόπλασμα αποκλείεται με τη χρήση τόσο των δοκιμασιών που βασίζονται στην PCR όσο και των μεθόδων ανίχνευσης μυκοπλάσματος με βάση τη φωταύγεια.

Για να διασφαλιστεί ότι δεν υπάρχει μόλυνση από βακτήρια, μύκητες ή ζύμες, οι κυτταροκαλλιέργειες υποβάλλονται σε καθημερινές οπτικές επιθεωρήσεις.