

HCE-T sejtek | 305255

Általános információk

Description

A HCE-T egy SV40-vel transzformált emberi szaruhártya-epiteliális sejtvonal, amelyet elsődleges emberi szaruhártya-epitéliumból nyertek. A vonalat egy rekombináns SV40–adenovírus hibrid vektorral (Ad–SV40) történő fertőzéssel hozták létre, ami lehetővé tette az SV40 nagy T-antigén stabil expresszióját és a sejtek folyamatos szaporodását. Az eredeti jellemzés kifejezetten arra irányult, hogy olyan folyamatosan szaporodó szaruhártya-epiteliális sejtvonalat hozzanak létre, amely nem bocsát ki szabad vírusrészcskéket.

Tenyészetben a HCE-T sejtek tipikus epitheliális „macskaköves” morfológiát mutatnak, és adhezív monoréteggént növekednek. Ultrastrukturális epitheliális jellemzőkről, például deszmozómákról és apikális mikrovillusokról számoltak be, és a sejteket úgy írták le, hogy szaruhártyához kapcsolódó 64 kD-os keratint termelnek. Megfelelő differenciálódási körülmények között (pl. kollagénon végzett levegő–folyadék határfelületi tenyésztés) a HCE-T sejtek többrétegű, réteges struktúrákat képezhetnek, és mérhető gátló tulajdonságokat fejleszthetnek ki, ami alátámasztja alkalmazásukat a szemfelszíni kutatásokban.

A HCE-T sejteket széles körben használják a szaruhártya-epiteliális gátfunkció, a permeabilitás és a készítmények hatásainak, a migrációval/helyreállítással kapcsolatos folyamatok, valamint a gyulladásos vagy irritáló ingerekre adott sejtválaszok vizsgálatára. A transzporterek expressziós mintázata és a differenciálódási markerek profilja azonban eltérhet a natív emberi szaruhártyától és az elsődleges limbus/szaruhártya-epiteliális rendszerektől. Ezért a HCE-T leginkább mechanisztikus és összehasonlító in vitro vizsgálatokra alkalmas, míg az in vivo emberi szaruhártya-abszorpcióra vagy a szaruhártya-differenciálódás biológiájára vonatkozó közvetlen kvantitatív extrapolációt óvatosan kell elvégezni.

Organism Emberi

Tissue Szem, szaruhártya, hám

Synonyms HCET, Humán szaruhártya epitélsejtek-transzformáltak, HCE, SV40-HCEC

Jellemzők

Age 49 év

Gender Női

Ethnicity Japán

Morphology Epithelialis

Cell type Epithelsejt

Growth properties Adherent

HCE-T sejtek | 305255

Szabályozási adatok

Citation	HCE-T (Cytion katalógusszám: 305255)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_1272
GMO Status	GMO-S1: Ez a humán szaruhártya epithelsejtvonal (HCE-T) egy SV40 korai régiójú konstrukciót tartalmaz (RSV-T / pRSV-T vektor), amely lehetővé teszi az immortalizációt. Az inszert stabilan integrálódik a primer humán szaruhártya-hámsejtekbe. Ez a besorolás csak Németországban érvényes, máshol ettől eltérhet.

Biomolekuláris adatok

Viruses	Transzformáns: RSV-T plazmid (pRSV-T). Ez a plazmid egy SV40 ori-konstrukció, amely tartalmazza az SV40 korai régió génjeit és a Rous szarkóma vírus hosszú terminális ismétlődését.
Products	Keratin (64kD)

A kezelése

Culture Medium	DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/L glükóz, w: 2,5 mM L-Glutamin, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM nátrium-piruvát, w: 1,2 g/L NaHCO ₃ (Cytion 820400a cikkszám)
Supplements	A táptalajt 5% FBS-szel, 1% ITS-szel (0,625 mg/ml humán inzulin, 0,625 mg/ml humán transferrin, 0,625 mikrogramm/ml nátrium-szelenit, 0,535 mg/ml linolsav, 125 mg/ml BSA) és 10 ng/ml humán EGAA-val kell kiegészíteni
Dissociation Reagent	Accutase

Subculturing Távolítsa el a régi táptalajt a megtapadt sejtekről, és mossa őket kalcium- és magnéziummentes PBS-szel. T25-ös lombikokhoz 3-5 ml PBS-t, T75-ös lombikokhoz pedig 5-10 ml-t használjunk. Ezután fedjük be a sejteket teljesen Accutase-zal, T25 lombikok esetében 1-2 ml-t, T75 lombikok esetében 2,5 ml-t használva. A sejteket 8-10 percig hagyjuk szobahőmérsékleten inkubálni, hogy leváljanak. Az inkubálás után óvatosan keverjük össze a sejteket 10 ml tápfolyadékkal, hogy reszuszpendáljuk őket, majd centrifugáljuk 300xg-nél 3 percig. Dobja el a felülúszót, szuszpendálja újra a sejteket friss tápfolyadékban, és helyezze át őket új lombikokba, amelyek már friss tápfolyadékot tartalmaznak.

HCE-T sejtek | 305255

Freeze medium

Krioprezerváló táptalajként teljes növekedési táptalajt (beleértve az FBS-t) + 10% DMSO-t használunk a megfelelő kiolvasztás utáni életképesség érdekében, vagy CM-1-et (Cytion katalógusszám: 800100), amely optimalizált ozmoprotektánsokat és metabolikus stabilizátorokat tartalmaz a regenerálódás fokozása és a krio-indukált stressz csökkentése érdekében.

Thawing and Culturing Cells

1. Ellenőrizze, hogy az injekciós üveg a szállításkor mélyhűtött marad-e, mivel a sejteket szárazjégen szállítják, hogy a szállítás során az optimális hőmérsékletet fenntartsák.
2. Átvételt követően vagy azonnal tárolja a krioampullát $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ alatti hőmérsékleten a sejtek integritásának megőrzése érdekében, vagy folytassa a 3. lépéssel, ha azonnali tenyésztésre van szükség.
3. Azonnali tenyésztés esetén gyorsan fel kell olvasztani az injekciós üveget úgy, hogy tiszta vízzel és antimikrobiális szerrel ellátott $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ -os vízfürdőbe merítjük, és 40-60 másodpercig óvatosan kevergetjük, amíg egy kis jégcsomó nem marad.
4. Az összes további lépést steril körülmények között, áramlásos elszívóban végezzük el, és nyitás előtt fertőtlenítsük a krioüveget 70%-os etanollal.
5. Óvatosan nyissa fel a fertőtlenített fiolát, és a sejtszuszpenziót óvatosan összekeverve helyezze át egy 15 ml-es centrifugacsőbe, amely 8 ml szobahőmérsékletű táptalajt tartalmaz.
6. Centrifugáljuk az elegyet $300 \times g$ -n 3 percig a sejtek szétválasztásához, és óvatosan dobjuk el a maradék fagyasztóközeget tartalmazó felülúszót.
7. Óvatosan szuszpendáljuk újra a sejtanyagot 10 ml friss táptalajban. Adhezív sejtek esetében ossza a szuszpenziót két T25-ös tenyésztőlombik között; szuszpenziós kultúrák esetében az összes tápfolyadékot tegye át egy T25-ös lombikba a hatékony sejtkölcsönhatás és növekedés elősegítése érdekében.
8. A sejtvonal folyamatos növekedése és fenntartása érdekében tartsa be a megállapított szubkultúra protokollokat, biztosítva a megbízható kísérleti eredményeket.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , párasított légkör.

Flask Coating

Nincs

Freezing Procedure

A kriokonzervált sejtvonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ -on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

HCE-T sejtek | 305255

Shipping Conditions

A kriokonzervált sejtvonalatokat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül -78 °C -on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

Storage Conditions

Hosszú távú tartósítás céljából helyezze az üvegeket gőzfázisú folyékony nitrogénbe, körülbelül -150 °C és -196 °C közötti hőmérsékleten. A -80 °C -on történő tárolás csak rövid átmeneti lépésként fogadható el a folyékony nitrogénbe való átvitel előtt.

Minőségellenőrzés / Genetikai profil / HLA

Sterility

A mikoplazma-szennyeződést mind a PCR-alapú vizsgálatokkal, mind a lumineszcencia-alapú mikoplazma-kimutatási módszerekkel kizárják.

A bakteriális, gombás vagy élesztőgombás szennyeződés elkerülése érdekében a sejt kultúrákat napi vizuális ellenőrzésnek vetik alá.