

HCE-T ląstelės | 305255

Bendra informacija

Description

HCE-T yra SV40 transformuota žmogaus ragenos epitelio ląstelių linija, gauta iš pirminio žmogaus ragenos epitelio. Linija buvo sukurta užkrėsus ląsteles rekombinantiniu SV40–adenoviruso hibridiniu vektoriumi (Ad–SV40), leidžiančiu stabiliai ekspresuoti SV40 didįjį T antigeną ir užtikrinančiu nuolatinę proliferaciją. Pirminis charakterizavimas buvo specialiai skirtas sukurti nuolat augančią ragenos epitelio ląstelių liniją, neišskiriančią laisvų virusinių dalelių.

Kultūroje HCE-T ląstelės pasižymi tipine epitelio „akmenukų“ morfologija ir auga kaip prilipusios monosluoksnės. Buvo pranešta apie ultrastruktūrines epitelio savybes, tokias kaip desmosomos ir apikalinės mikrovilės, o ląstelės buvo apibūdintos kaip gaminančios su ragena susijusį 64 kD keratiną. Tinkamomis diferenciacijos sąlygomis (pvz., oro–skysčio sąsajos kultūroje ant kolageno) HCE-T ląstelės gali formuoti daugiasluoksnės, sluoksniuotas struktūras ir išugdyti išmatuojamas barjero savybes, o tai leidžia jas naudoti akies paviršiaus tyrimuose.

HCE-T ląstelės plačiai naudojamos ragenos epitelio barjero funkcijos, pralaidumo ir preparatų poveikio, migracijos/atstatymo procesų bei ląstelių reakcijų į uždegiminius ar dirginančius dirgiklius tyrimams. Tačiau transporterių ekspresijos modeliai ir diferenciacijos žymenų profiliai gali skirtis nuo natūralios žmogaus ragenos ir pirminių limbo/ragenos epitelio sistemų. Todėl HCE-T geriausiai tinka mechanistiniams ir lyginamiesiems in vitro tyrimams, o tiesioginė kiekybinė ekstrapoliacija į in vivo žmogaus ragenos absorbciją ar ragenos diferenciacijos biologiją turėtų būti atliekama atsargiai.

Organism Žmogus

Tissue Akis, ragena, epitelis

Synonyms HCET, žmogaus ragenos epitelio ląstelės - transformuotos, HCE, SV40-HCEC

Charakteristikos

Age 49 metai

Gender Moteris

Ethnicity Japonų

Morphology Epitelis

Cell type Epitelinė ląstelė

Growth properties Prigludęs

HCE-T ląstelės | 305255

Reguliavimo duomenys

Citation	HCE-T (Cytion katalogo numeris 305255)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_1272
GMO Status	GMO-S1: Šioje žmogaus ragenos epitelio ląstelių linijoje (HCE-T) yra SV40 ankstyvojo regiono konstruktas (RSV-T / pRSV-T vektorius), leidžiantis ją imortalizuoti. Įdėklas stabiliai integruojamas į pirmines žmogaus ragenos epitelio ląsteles. Ši klasifikacija taikoma tik Vokietijoje ir gali skirtis kitose šalyse.

Biomolekuliniai duomenys

Viruses	Transformantas: RSV-T plazmidė (pRSV-T). Ši plazmidė yra SV40 ori-konstrukcija, kurioje yra SV40 ankstyvosios srities genai ir Rous sarkomos viruso ilgasis terminalinis pakartojimas.
Products	Keratinas (64 kD)

Tvarkymas

Culture Medium	DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/l gliukozės, w: 2,5 mM L-glutamino, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM natrio piruvato, w: 1,2 g/l NaHCO ₃ (Cytion gaminio numeris 820400a)
Supplements	Papildykite terpę 5 % FBS, 1 % ITS (0,625 mg/ml žmogaus insulino, 0,625 mg/ml žmogaus transferino, 0,625 mikrogramų/ml natrio selenito, 0,535 mg/ml linolo rūgšties, 125 mg/ml BSA) ir 10 ng/ml žmogaus EGF
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Pašalinkite seną terpę nuo prilipusių ląstelių ir nuplaukite jas PBS, kuriame nėra kalcio ir magnio. T25 kolboms naudokite 3-5 ml PBS, o T75 kolboms - 5-10 ml. Tuomet visiškai užpilkite ląsteles "Accutase", naudodami 1-2 ml T25 kolboms ir 2,5 ml T75 kolboms. Leiskite ląstelėms inkubuotis kambario temperatūroje 8-10 minučių, kad jos atsiskirtų. Po inkubacijos atsargiai sumaišykite ląsteles su 10 ml terpės, kad jos vėl suspenduotų, tada 3 minutes centrifuguokite 300xg greičiu. Išmeskite supernatantą, vėl sutirpinkite ląsteles šviežioje terpėje ir perkelkite jas į naujas kolbas, kuriose jau yra šviežia terpė.

HCE-T ląstelės | 305255

Freeze medium

Kaip kriokonservavimo terpę naudojame visišką augimo terpę (įskaitant FBS) + 10 % DMSO, kad būtų užtikrintas tinkamas gyvybingumas po atšildymo, arba CM-1 (Cytion katalogo numeris 800100), kurioje yra optimizuotų osmoprotektorių ir medžiagų apykaitos stabilizatorių, kad būtų pagerintas atsigavimas ir sumažintas kriokonservavimo sukeltas stresas.

Thawing and Culturing Cells

1. Patikrinkite, ar pristatant buteliuką jis išlieka gerai užšaldytas, nes ląstelės gabenamos ant sauso ledo, kad gabenimo metu būtų palaikoma optimali temperatūra.
2. Gavę iš karto laikykite kriovialą žemesnėje nei -150°C temperatūroje, kad užtikrintumėte ląstelių vientisumo išsaugojimą, arba pereikite prie 3 veiksmo, jei reikia nedelsiant kultivuoti.
3. Jei norite nedelsiant pradėti kultivuoti, greitai atšildykite buteliuką panardindami jį į 37°C temperatūros vandens vonelę su švariu vandeniu ir antimikrobine priemone, švelniai maišydami 40-60 sekundžių, kol liks nedidelis ledo gabalėlis.
4. Visus tolesnius veiksmus atlikite steriliomis sąlygomis srauto gaubte, prieš atidarydami kriovialą dezinfekuokite jį 70 % etanoliu.
5. Atsargiai atidarykite dezinfekuotą buteliuką ir perpilkite ląstelių suspensiją į 15 ml centrifugos mėgintuvėlį, kuriame yra 8 ml kambario temperatūros mitybinės terpės, atsargiai išmaišykite.
6. Mišinį centrifuguokite 300 x g greičiu 3 minutes, kad atsiskirtų ląstelės, ir atsargiai išmeskite supernatantą su šaldymo terpės likučiais.
7. Švelniai resuspenduokite ląstelių granules 10 ml šviežios mitybinės terpės. Jei ląstelės yra prigludusios, suspensiją padalykite į dvi T25 kolbas; jei tai suspensinės kultūros, visą terpę perkelkite į vieną T25 kolbą, kad paskatintumėte veiksmingą ląstelių sąveiką ir augimą.
8. Laikykitės nustatytų subkultūrų protokolų, kad ląstelių linija nuolat augtų ir būtų palaikoma, taip užtikrinant patikimus eksperimentų rezultatus.

Incubation Atmosphere

37°C , 5 % CO_2 , drėkintoje atmosferoje.

Flask Coating

Nėra

Freezing Procedure

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug -78°C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelkite mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

HCE-T ląstelės | 305255

Shipping Conditions

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug -78 °C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelkite mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

Storage Conditions

Norėdami ilgai saugoti, įdėkite buteliukus į garų fazės skystą azotą maždaug -150-196 °C temperatūroje. Laikymas -80 °C temperatūroje yra priimtinas tik kaip trumpas tarpinis etapas prieš perkeliant į skystą azotą.

Kokybės kontrolė / Genetinis profilis / HLA

Sterility

Mikoplazmos užterštumas atmetamas taikant PGR pagrįstus tyrimus ir liuminescencinius mikoplazmos aptikimo metodus.

Siekiant užtikrinti, kad nebūtų užteršimo bakterijomis, grybeliais ar mielėmis, ląstelių kultūros kasdien vizualiai tikrinamos.