

HCE-T šūnas | 305255

Vispārīga informācija

Description

HCE-T ir ar SV40 transformēta cilvēka radzenes epitēlija šūnu līnija, kas iegūta no primārā cilvēka radzenes epitēlija. Šo līniju izveidoja, inficējot ar rekombinantu SV40–adenovīrusa hibrīdvektoru (Ad–SV40), kas nodrošina stabilu SV40 lielā T antigēna ekspresiju un nepārtrauktu proliferāciju. Sākotnējās raksturošanas mērķis bija radīt nepārtraukti augošu radzenes epitēlija šūnu līniju, kas neizdala brīvas vīrusu daļiņas.

Kultūrā HCE-T šūnas parāda tipisku epitēlija “bruģakmens” morfoloģiju un aug kā adhezīvas monoslāņi. Ir ziņots par epitēlija ultrastrukturālām pazīmēm, piemēram, desmosomām un apikālajām mikrovilām, un ir aprakstīts, ka šīs šūnas ražo ar radzeni saistītu 64 kD keratīnu. Piemērotos diferenciācijas apstākļos (piemēram, gaisa–šķidrums saskares kultūrā uz kolagēna) HCE-T šūnas var veidot daudzslāņu, stratificētas struktūras un atstāt izmērāmas barjeras īpašības, kas atbalsta to izmantošanu acs virsmas pētījumos.

HCE-T šūnas plaši izmanto, lai pētītu radzenes epitēlija barjeras funkciju, caurlaidību un preparātu ietekmi, migrācijas/reģenerācijas procesus, kā arī šūnu reakcijas uz iekaisuma vai kairinošiem stimuliem. Tomēr transportieru ekspresijas modeļi un diferenciācijas marķieru profili var atšķirties no dabiskās cilvēka radzenes un primārajām limba/radzenes epitēlija sistēmām. Tāpēc HCE-T vislabāk piemērots mehāniskiem un salīdzinošiem in vitro pētījumiem, savukārt tieša kvantitatīva ekstrapolācija uz in vivo cilvēka radzenes absorbciju vai radzenes diferenciācijas bioloģiju jāveic ar piesardzību.

Organism Cilvēks

Tissue Acs, radzene, epitēlijs

Synonyms HCET, cilvēka radzenes epitēlija šūnas - pārveidotas, HCE, SV40-HCEC

Raksturojums

Age 49 gadi

Gender Sievietes

Ethnicity Japāņu

Morphology Epitēlija

Cell type Epitēlija šūna

Growth properties Adherent

Normatīvie dati

HCE-T šūnas | 305255

Citation	HCE-T (Cytion kataloga numurs 305255)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_1272
GMO Status	GMO-S1: Šī cilvēka radzenes epitēlija šūnu līnija (HCE-T) satur SV40 agrīnā reģiona konstrukciju (RSV-T / pRSV-T vektoru), kas nodrošina imortalizāciju. Inserts ir stabili integrēts primārajās cilvēka radzenes epitēlija šūnās. Šī klasifikācija attiecas tikai uz Vāciju un var atšķirties citur.

Biomolekulārie dati

Viruses	Transformants: RSV-T plazmīda (pRSV-T). Šī plazmīda ir SV40 ori-konstrukcija, kas satur SV40 agrīnā reģiona gēnus un Rous sarkomas vīrusa garo terminālo atkārtojumu.
Products	Keratīns (64kD)

Darbs ar

Culture Medium	DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/l glikozes, w: 2,5 mM L-glutamīna, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM nātrija piruvāta, w: 1,2 g/l NaHCO ₃ (Cytion izstrādājuma numurs 820400a)
Supplements	Papildināt barotni ar 5% FBS, 1% ITS (0,625 mg/ml cilvēka insulīna, 0,625 mg/ml cilvēka transferīna, 0,625 mikrogramu/ml nātrija selenīta, 0,535 mg/ml linolskābes, 125 mg/ml BSA) un 10 ng/ml cilvēka EGF
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Noņemt veco barotni no pielipušajām šūnām un mazgāt tās ar PBS, kurā nav kalcija un magnija. T25 kolbām izmantotiet 3-5 ml PBS, bet T75 kolbām - 5-10 ml. Pēc tam pilnībā pārklājiet šūnas ar Accutase, izmantojot 1-2 ml T25 kolbām un 2,5 ml T75 kolbām. Ļaujiet šūnām inkubēties istabas temperatūrā 8-10 minūtes, lai tās atdalītos. Pēc inkubācijas uzmanīgi samaisiet šūnas ar 10 ml barotnes, lai tās atkārtoti suspendētu, pēc tam centrifugējiet 3 minūtes ar 300xg. Izmetiet supernatantu, atkārtoti suspendējiet šūnas svaigā barotnē un pārvietojiet tās jaunās kolbās, kurās jau ir svaiga barotne.
Freeze medium	Kā kriokonservēšanas barotni mēs izmantojam pilnvērtīgu augšanas barotni (ieskaitot FBS) + 10 % DMSO, lai nodrošinātu pietiekamu dzīvotspēju pēc atkausēšanas, vai CM-1 (Cytion kataloga numurs 800100), kas ietver optimizētus osmoprotektorus un metaboliskos stabilizatorus, lai uzlabotu atveseļošanas un samazinātu krioinducēto stresu.

HCE-T šūnas | 305255

Thawing and Culturing Cells

1. Pārliecinieties, ka pēc piegādes flakons paliek dziļi sasaldēts, jo šūnas tiek sūtītas uz sausā ledus, lai pārvadāšanas laikā saglabātu optimālu temperatūru.
2. Pēc saņemšanas vai nu nekavējoties uzglabāt kriovialu temperatūrā, kas zemāka par -150 °C, lai nodrošinātu šūnu integritātes saglabāšanu, vai arī turpināt 3. posmu, ja nepieciešama tūlītēja kultivēšana.
3. Tūlītējas kultivēšanas gadījumā ātri atkausējiet flakonu, iegremdējot to 37°C ūdens vannā ar tīru ūdeni un antibakteriālu līdzekli, viegli maisot 40-60 sekundes, līdz paliek neliels ledus gabaliņš.
4. Visas turpmākās darbības veiciet sterilos apstākļos plūsmas nosūcējā, pirms atvēršanas dezinficējot kriovialu ar 70% etanolu.
5. Uzmanīgi atveriet dezinficēto flakonu un pārnesiet šūnu suspensiju 15 ml centrifūgas mēģenē, kurā ir 8 ml istabas temperatūras barotnes, uzmanīgi samaisot.
6. Centrifugējiet maisījumu ar 300 x g 3 minūtes, lai atdalītu šūnas, un uzmanīgi izmetiet virskārtu, kas satur saldēšanas barotnes atlikumus.
7. Viegli resuspendēt šūnu granulas 10 ml svaigas barotnes. Adhēzijas šūnu gadījumā suspensiju sadalīt divās T25 kolbās; suspensijas kultūrām visu barotni pārnest vienā T25 kolbā, lai veicinātu efektīvu šūnu mijiedarbību un augšanu.
8. Ievērojiet noteiktos subkultūru protokolus, lai nodrošinātu nepārtrauktu šūnu līnijas augšanu un uzturēšanu, tādējādi nodrošinot uzticamus eksperimentu rezultātus.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO_2 , mitrināta atmosfēra.

Flask Coating

Neviens

Freezing Procedure

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidrums daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

HCE-T šūnas | 305255

Shipping Conditions

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidrums daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

Storage Conditions

Ilgstošai uzglabāšanai flakonus ievietojiet šķidrā slāpekļī ar tvaika fāzi aptuveni -150 līdz -196 °C temperatūrā. Uzglabāšana -80 °C temperatūrā ir pieļaujama tikai kā īss starposms pirms pārvietošanas uz šķidro slāpekli.

Kvalitātes kontrole / Ģenētiskais profils / HLA

Sterility

Mikoplazmas piesārņojums tiek izslēgts, izmantojot gan uz PCR balstītus testus, gan uz luminiscenci balstītas mikoplazmas noteikšanas metodes.

Lai pārliecinātos, ka nav baktēriju, sēnīšu vai rauga piesārņojuma, šūnu kultūras katru dienu vizuāli pārbauda.