

Komórki HCE-T | 305255

Informacje ogólne

Description

HCE-T to transformowana wirusem SV40 ludzka linia komórek nabłonka rogówki, wyhodowana z pierwotnego ludzkiego nabłonka rogówki. Linia ta została uzyskana poprzez zakażenie rekombinowanym wektorem hybrydowym SV40–adenowirusa (Ad–SV40), co umożliwiło stabilną ekspresję dużego antygeny T wirusa SV40 oraz ciągłą proliferację. Pierwotna charakterystyka miała na celu przede wszystkim uzyskanie stale rosnącej linii komórek nabłonka rogówki, która nie uwalnia wolnych cząstek wirusowych.

W hodowli komórki HCE-T wykazują typową dla nabłonka morfologię „kostki brukowej” i rosną jako przylegające monowarstwy. Odnotowano ultrastrukturalne cechy nabłonkowe, takie jak desmosomy i mikrokosmki wierzchołkowe, a komórki opisano jako wytwarzające keratynę o masie 64 kD związaną z rogówką. W odpowiednich warunkach różnicowania (np. hodowla na granicy faz powietrze–ciecz na kolagenie) komórki HCE-T mogą tworzyć wielowarstwowe, rozwarstwione struktury i rozwijać mierzalne właściwości barierowe, co wspiera ich wykorzystanie w badaniach powierzchni oka.

Komórki HCE-T są szeroko stosowane do badania funkcji barierowej nabłonka rogówki, przepuszczalności i wpływu preparatów, procesów związanych z migracją/naprawą oraz reakcji komórkowych na bodźce zapalne lub drażniące. Jednak wzorce ekspresji transporterów i profile markerów różnicowania mogą różnić się od naturalnej rogówki ludzkiej oraz od pierwotnych układów nabłonka rąbka/rogówki. Dlatego komórki HCE-T najlepiej nadają się do mechanistycznych i porównawczych badań in vitro, natomiast bezpośrednią ekstrapolację ilościową na wchłanianie w ludzkiej rogówce in vivo lub biologię różnicowania rogówki należy przeprowadzać z ostrożnością.

Organism Człowiek

Tissue Oko, rogówka, nabłonek

Synonyms HCET, przekształcone ludzkie komórki nabłonka rogówki, HCE, SV40-HCEC

Charakterystyka

Age 49 lat

Gender Kobieta

Ethnicity Japoński

Morphology Nabłonek

Cell type Komórka nabłonkowa

Growth properties Adherent

Komórki HCE-T | 305255

Dane regulacyjne

Citation	HCE-T (numer katalogowy Cytion 305255)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_1272
GMO Status	GMO-S1: Ta linia ludzkich komórek nabłonka rogówki (HCE-T) zawiera konstrukcję wczesnego regionu SV40 (wektor RSV-T / pRSV-T), umożliwiającą immortalizację. Wstawka jest stabilnie zintegrowana z pierwotnymi ludzkimi komórkami nabłonka rogówki. Ta klasyfikacja ma zastosowanie tylko w Niemczech i może się różnić w innych krajach.

Dane biomolekularne

Viruses	Transformant: plazmid RSV-T (pRSV-T). Plazmid ten jest orientacyjnym konstruktem SV40 zawierającym geny wczesnego regionu SV40 i długie powtórzenie terminalne wirusa mięsaka Rous.
Products	Keratyna (64kD)

Obsługa

Culture Medium	DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/l glukozy, w: 2,5 mM L-glutaminy, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM pirogronianu sodu, w: 1,2 g/l NaHCO ₃ (numer artykułu Cytion 820400a)
Supplements	Uzupełnić pożywkę 5% FBS, 1% ITS (0,625 mg/ml ludzkiej insuliny, 0,625 mg/ml ludzkiej transferyny, 0,625 mikrogramów/ml seleninu sodu, 0,535 mg/ml kwasu linolowego, 125 mg/ml BSA) i 10 ng/ml ludzkiego EGF
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Usuń starą pożywkę z przylegających komórek i przemyj je PBS, który nie zawiera wapnia i magnezu. W przypadku kolb T25 należy użyć 3-5 ml PBS, a w przypadku kolb T75 5-10 ml. Następnie całkowicie pokryj komórki Accutase, używając 1-2 ml dla kolb T25 i 2,5 ml dla kolb T75. Pozwól komórkom inkubować w temperaturze pokojowej przez 8-10 minut, aby je oddzielić. Po inkubacji delikatnie wymieszaj komórki z 10 ml pożywki, aby ponownie je zawiesić, a następnie odwiruj przy 300xg przez 3 minuty. Odrzuć supernatant, ponownie zawiesić komórki w świeżej pożywce i przenieść je do nowych kolb zawierających już świeżą pożywkę.
Split ratio	Zalecany jest stosunek 1:8

Komórki HCE-T | 305255**Freeze medium**

Jako pożywki do kriokonserwacji używamy kompletnej pożywki wzrostowej (w tym FBS) + 10% DMSO w celu zapewnienia odpowiedniej żywotności po rozmrożeniu lub CM-1 (numer katalogowy Cytion 800100), która zawiera zoptymalizowane osmoprotektanty i stabilizatory metaboliczne w celu zwiększenia regeneracji i zmniejszenia stresu wywołanego kriokonserwacją.

Thawing and Culturing Cells

1. Upewnij się, że fiolka pozostaje głęboko zamrożona w momencie dostawy, ponieważ komórki są wysyłane w suchym lodzie, aby utrzymać optymalną temperaturę podczas transportu.
2. Po otrzymaniu należy natychmiast przechowywać fiolkę w temperaturze poniżej -150°C , aby zapewnić zachowanie integralności komórek, lub przejść do kroku 3, jeśli wymagana jest natychmiastowa hodowla.
3. W przypadku natychmiastowej hodowli należy szybko rozmrozić fiolkę, zanurzając ją w łaźni wodnej o temperaturze 37°C z czystą wodą i środkiem przeciwdrobnoustrojowym, delikatnie mieszając przez 40-60 sekund, aż pozostanie niewielka grudka lodu.
4. Wykonaj wszystkie kolejne kroki w sterylnych warunkach w kapturze przepływowej, dezynfekując fiolkę 70% etanolem przed otwarciem.
5. Ostrożnie otworzyć zdezynfekowaną fiolkę i przenieść zawiesinę komórek do 15 ml próbówki wirówkowej zawierającej 8 ml podłoża hodowlanego o temperaturze pokojowej, delikatnie mieszając.
6. Wirować mieszaninę z prędkością $300 \times g$ przez 3 minuty w celu oddzielenia komórek i ostrożnie odrzucić supernatant zawierający pozostałości pożywki do zamrażania.
7. Delikatnie ponownie zawiesić osad komórek w 10 ml świeżego podłoża hodowlanego. W przypadku komórek przylegających, rozdzielić zawiesinę pomiędzy dwie kolby hodowlane T25; w przypadku hodowli zawiesinowych, przenieść całą pożywkę do jednej kolby T25 w celu promowania skutecznej interakcji i wzrostu komórek.
8. Przestrzegaj ustalonych protokołów podhodowli w celu ciągłego wzrostu i utrzymania linii komórkowej, zapewniając wiarygodne wyniki eksperymentów.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , nawilżona atmosfera.

Flask Coating

Brak

Komórki HCE-T | 305255

Freezing Procedure

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Shipping Conditions

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Storage Conditions

W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiolki w ciekłym azocie w fazie lotnej w temperaturze od -150 do -196°C . Przechowywanie w temperaturze -80°C jest dopuszczalne tylko jako krótki etap przejściowy przed przeniesieniem do ciekłego azotu.

Kontrola jakości / Profil genetyczny / HLA

Sterility

Zanieczyszczenie mykoplazmą jest wykluczone przy użyciu zarówno testów opartych na PCR, jak i metod wykrywania mykoplazmy opartych na luminescencji.

Aby upewnić się, że nie ma zanieczyszczenia bakteriami, grzybami lub drożdżami, hodowle komórkowe są poddawane codziennym kontrolom wizualnym.