

Bunky HCE-T | 305255**Všeobecné informácie****Description**

HCE-T je ľudská rohovková epitelová bunková línia transformovaná vírusom SV40, odvodená z primárneho ľudského rohovkového epitelu. Táto línia bola vytvorená infekciou rekombinantným hybridným vektorom SV40–adenovírus (Ad–SV40), ktorý umožňuje stabilnú expresiu veľkého T-antigénu SV40 a nepretržitú proliferáciu. Pôvodná charakterizácia bola špecificky zameraná na vytvorenie nepretržite rastúcej rohovkovej epitelovej bunkovej línie bez uvoľňovania voľných vírusových častíc.

V kultúre vykazujú bunky HCE-T typickú epitelovú „dlažobnú“ morfológiu a rastú ako adhezívne monovrstvy. Boli popísané ultrastrukturálne epiteliálne znaky, ako sú desmozomy a apikálne mikrovili, a bolo zistené, že bunky produkujú keratín s molekulovou hmotnosťou 64 kD asociovaný s rohovkou. Za vhodných podmienok diferenciácie (napr. kultivácia na rozhraní vzduch–kvapalina na kolagéne) môžu bunky HCE-T vytvárať viacvrstvé, stratifikované štruktúry a vyvíjať merateľné bariérové vlastnosti, čo podporuje ich využitie vo výskume povrchu oka.

Bunky HCE-T sa široko používajú na štúdium bariérovej funkcie rohovkového epitelu, permeability a účinkov formulácií, procesov súvisiacich s migráciou/opravou a bunkových reakcií na zápalové alebo dráždivé podnety. Vzorce expresie transportérov a profily diferenciálnych markerov sa však môžu líšiť od pôvodnej ľudskej rohovky a od primárnych limbálnych/rohovkových epitelových systémov. Preto sú HCE-T najvhodnejšie pre mechanistické a komparatívne in vitro štúdie, zatiaľ čo priame kvantitatívne extrapolácie na in vivo absorpciu ľudskej rohovky alebo biológiu diferenciácie rohovky by sa mali vykonávať s opatrnosťou.

Organism

Ľudské

Tissue

Oko, rohovka, epitel

Synonyms

HCET, Human Corneal Epithelial cells-Transformed, HCE, SV40-HCEC

Charakteristika**Age**

49 rokov

Gender

Ženy

Ethnicity

Japonský

Morphology

Epitelové

Cell type

Epitelová bunka

Growth properties

Adherent

Bunky HCE-T | 305255**Regulačné údaje**

Citation	HCE-T (katalógové číslo Cytion 305255)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_1272
GMO Status	GMO-S1: Táto línia ľudských rohových epitelových buniek (HCE-T) obsahuje konštrukt SV40 s ranou oblasťou (RSV-T / pRSV-T vektor), ktorý umožňuje immortalizáciu. Vložka je stabilne integrovaná do primárnych ľudských rohových epitelových buniek. Táto klasifikácia platí len v Nemecku a môže sa líšiť v iných krajinách.

Biomolekulárne údaje

Viruses	Transformant: plazmid RSV-T (pRSV-T). Tento plazmid je ori-konštrukcia SV40 obsahujúca gény včasnej oblasti SV40 a dlhé terminálne opakovanie vírusu Rousovho sarkómu.
Products	Keratín (64kD)

Spracovanie

Culture Medium	DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/l glukózy, w: 2,5 mM L-glutamínu, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM pyruvátu sodného, w: 1,2 g/l NaHCO ₃ (číslo výrobku Cytion 820400a)
Supplements	Doplňte médium o 5 % FBS, 1 % ITS (0,625 mg/ml ľudského inzulínu, 0,625 mg/ml ľudského transferínu, 0,625 mikrogramov/ml seleničitanu sodného, 0,535 mg/ml kyseliny linolovej, 125 mg/ml BSA) a 10 ng/ml ľudského EGF
Dissociation Reagent	Accutase

Subculturing Odstráňte staré médium z adherovaných buniek a premyte ich PBS, ktorý neobsahuje vápnik a horčík. Pre banky T25 použite 3 - 5 ml PBS a pre banky T75 použite 5 - 10 ml. Potom bunky úplne pokryte Accutase, pričom použite 1 - 2 ml pre banky T25 a 2,5 ml pre banky T75. Nechajte bunky inkubovať pri izbovej teplote 8-10 minút, aby sa oddelili. Po inkubácii jemne premiešajte bunky s 10 ml média, aby boli znovu suspendované, a potom ich 3 minúty odstredíte pri 300xg. Supernatant zlikvidujte, bunky znovu rozmiešajte v čerstvom médiu a preneste ich do nových fliaš, ktoré už obsahujú čerstvé médium.

Bunky HCE-T | 305255

Freeze medium

Ako kryokonzervačné médium používame kompletne rastové médium (vrátane FBS) + 10 % DMSO na zabezpečenie primeranej životaschopnosti po rozmrazení alebo CM-1 (katalógové číslo 800100 spoločnosti Cytion), ktoré obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory na zlepšenie regenerácie a zníženie stresu spôsobeného kryom.

Thawing and Culturing Cells

1. Overte si, že injekčná liekovka zostane pri doručení hlboko zmrazená, pretože bunky sa prepravujú na suchom ľade, aby sa počas prepravy udržala optimálna teplota.
2. Po prijatí buď okamžite uskladnite kryovialku pri teplote nižšej ako -150 °C, aby ste zabezpečili zachovanie bunkovej integrity, alebo prejdite na krok 3, ak je potrebná okamžitá kultivácia.
3. V prípade okamžitej kultivácie injekčnú liekovku rýchlo rozmrazte ponorením do vodného kúpeľa s teplotou 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálnym prostriedkom, pričom ju jemne miešajte 40 - 60 sekúnd, kým nezostane malý ľadový chumáč.
4. Všetky ďalšie kroky vykonajte v sterilných podmienkach v prietokovom digestore a pred otvorením kryovialku dezinfikujte 70 % etanolom.
5. Opatrne otvorte dezinfikovanú fľaštičku a preneste bunkovú suspenziu do 15 ml centrifugačnej skúmavky obsahujúcej 8 ml kultivačného média s izbovou teplotou a jemne premiešajte.
6. Zmes odstreďte pri 300 x g počas 3 minút, aby sa bunky oddelili, a opatrne zlikvidujte supernatant obsahujúci zvyšky zmrazovacieho média.
7. Pelet buniek jemne resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačného média. V prípade adherentných buniek rozdeľte suspenziu medzi dve kultivačné banky T25; v prípade suspenzných kultúr preneste všetko médium do jednej banky T25, aby ste podporili účinnú interakciu a rast buniek.
8. Dodržiavajte zavedené subkultivačné protokoly na nepretržitý rast a udržiavanie bunkovej línie, čím sa zabezpečia spoľahlivé výsledky experimentov.

Incubation Atmosphere

37 °C, 5 % CO_2 , zvlhčená atmosféra.

Flask Coating

Žiadne

Freezing Procedure

Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne -78 °C počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

Bunky HCE-T | 305255

Shipping Conditions

Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne -78 °C počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

Storage Conditions

Na dlhodobé uchovávanie umiestnite injekčné liekovky do kvapalnej fázy dusíka v pare pri teplote približne -150 až -196 °C. Skladovanie pri teplote -80 °C je prijateľné len ako krátky prechodný krok pred presunom do tekutého dusíka.

Kontrola kvality / Genetický profil / HLA

Sterility

Kontaminácia mykoplazmami sa vylučuje pomocou testov založených na PCR a metód detekcie mykoplazmiem založených na luminiscencii.

Aby sa zabezpečilo, že nedošlo ku kontaminácii baktériami, hubami alebo kvasinkami, bunkové kultúry sa denne vizuálne kontrolujú.