

HCE-T Hücreleri | 305255

Genel bilgi

Description

HCE-T, birincil insan kornea epitelinden türetilmiş, SV40 ile dönüştürülmüş bir insan kornea epitel hücre hattıdır. Bu hücre hattı, SV40 büyük T antijeninin istikrarlı bir şekilde eksprese edilmesini ve sürekli çoğalmayı sağlayan rekombinant bir SV40-adenovirüs hibrit vektörü (Ad-SV40) ile enfekte edilerek oluşturulmuştur. İlk karakterizasyon çalışması, serbest viral partiküller yaymadan sürekli büyüyen bir kornea epitel hücre hattı oluşturmayı hedeflemiştir.

Kültürde, HCE-T hücreleri tipik epitel "kaldırım taşı" morfolojisi gösterir ve yapışkan tek tabakalar halinde büyür. Desmozomlar ve apikal mikroviller gibi ultrastrüktürel epitel özellikleri bildirilmiştir ve hücrelerin kornea ile ilişkili 64 kD keratin ürettiği belirtilmiştir. Uygun farklılaşma koşulları altında (örn. kollajen üzerinde hava-sıvı arayüz kültürü), HCE-T hücreleri çok katmanlı, tabakalı yapılar oluşturabilir ve ölçülebilir bariyer özellikleri geliştirebilir; bu da göz yüzeyi araştırmalarında kullanımlarını desteklemektedir.

HCE-T hücreleri, kornea epitel bariyer fonksiyonu, geçirgenlik ve formülasyon etkileri, göç/onarımla ilgili süreçler ve enflamatuar veya tahriş edici uyaranlara karşı hücresel yanıtları incelemek için yaygın olarak kullanılmaktadır. Bununla birlikte, taşıyıcı ekspresyon modelleri ve farklılaşma belirteç profilleri, doğal insan korneasından ve birincil limbal/korneal epitel sistemlerinden farklılık gösterebilir. Bu nedenle, HCE-T mekanistik ve karşılaştırmalı in vitro çalışmalar için en uygun seçenektir; ancak, in vivo insan kornea emilimi veya kornea farklılaşma biyolojisine yönelik doğrudan kantitatif ekstrapolasyon dikkatle gerçekleştirilmelidir.

Organism

İnsan

Tissue

Göz, kornea, epitel

Synonyms

HCET, İnsan Kornea Epitel hücreleri-Transforme, HCE, SV40-HCEC

Özellikler

Age

49 yıl

Gender

Kadın

Ethnicity

Japonca

Morphology

Epitelyal

Cell type

Epitel hücre

Growth properties

Yapışık

Düzenleyici Veriler

HCE-T Hücreleri | 305255

Citation	HCE-T (Cytion katalog numarası 305255)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_1272
GMO Status	GMO-S1: Bu insan kornea epitel hücre hattı (HCE-T), immortalizasyon sağlayan bir SV40 erken bölge yapısı (RSV-T / pRSV-T vektörü) içerir. Ek parça, birincil insan kornea epitel hücrelerine stabil bir şekilde entegre edilmiştir. Bu sınıflandırma sadece Almanya içinde geçerlidir ve başka yerlerde farklılık gösterebilir.

Biyomoleküler Veriler

Viruses	Transformant: plazmid RSV-T (pRSV-T). Bu plazmid, SV40 erken bölge genlerini ve Rous sarkoma virüsü uzun terminal tekrarını içeren bir SV40 ori-yapısıdır.
Products	Keratin (64kD)

Elleçleme

Culture Medium	DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3.1 g/L Glukoz, w: 2.5 mM L-Glutamin, w: 15 mM HEPES, w: 0.5 mM Sodyum piruvat, w: 1.2 g/L NaHCO ₃ (Cytion makale numarası 820400a)
Supplements	Ortama %5 FBS, %1 ITS (0,625 mg/mL insan insülini, 0,625 mg/mL insan transferrini, 0,625 mikrogram/mL sodyum selenit, 0,535 mg/mL linoleik asit, 125 mg/mL BSA) ve 10 ng/mL insan EGF ekleyin
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Yapışık hücrelerden eski ortamı çıkarın ve kalsiyum ve magnezyum içermeyen PBS ile yıkayın. T25 şişeleri için 3-5 ml PBS ve T75 şişeleri için 5-10 ml kullanın. Ardından, T25 flasklar için 1-2 ml ve T75 flasklar için 2,5 ml kullanarak hücreleri Accutase ile tamamen kaplayın. Hücreleri ayırmak için oda sıcaklığında 8-10 dakika inkübasyona bırakın. İnkübasyondan sonra, hücreleri yeniden süspansiyon etmek için 10 ml besiyeriyle hafifçe karıştırın, ardından 300xg'de 3 dakika santrifüjleyin. Süpernatantı atın, hücreleri taze besiyerinde yeniden süspansiyon edin ve zaten taze besiyeri içeren yeni şişelere aktarın.
Freeze medium	Kriyoprezervasyon ortamı olarak, yeterli çözülme sonrası canlılık için tam büyüme ortamı (FBS dahil) + %10 DMSO veya iyileşmeyi artırmak ve kriyo-indüklenmiş stresi azaltmak için optimize edilmiş ozmoprotektanlar ve metabolik stabilizatörler içeren CM-1 (Cytion katalog numarası 800100) kullanıyoruz.

HCE-T Hücreleri | 305255

Thawing and Culturing Cells

1. Hücreler taşıma sırasında optimum sıcaklıkları korumak için kuru buz üzerinde gönderildiğinden, flakonun teslimat sırasında derin dondurulmuş halde kaldığını teyit edin.
2. Teslim aldıktan sonra, hücresel bütünlüğün korunmasını sağlamak için kriyovialı hemen -150°C'nin altındaki sıcaklıklarda saklayın veya hemen kültürleme gerekiyorsa 3. adıma geçin.
3. Derhal kültürleme için flakonu temiz su ve antimikrobiyal bir madde içeren 37°C'lik bir su banyosuna daldırıp küçük bir buz kümesi kalana kadar 40-60 saniye boyunca hafifçe çalkalayarak hızlıca çözün.
4. Sonraki tüm adımları steril koşullar altında bir akış başlığı içinde gerçekleştirin ve açmadan önce kriyoviyalleri %70 etanol ile dezenfekte edin.
5. Dezenfekte edilmiş flakonu dikkatlice açın ve hücre süspansiyonunu 8 ml oda sıcaklığında kültür ortamı içeren 15 ml'lik bir santrifüj tüpüne aktarın ve hafifçe karıştırın.
6. Hücreleri ayırmak için karışımı 300 x g'de 3 dakika santrifüjleyin ve artık dondurma ortamı içeren süpernatantı dikkatlice atın.
7. Hücre peletini 10 ml taze kültür ortamında yavaşça yeniden süspansiyon edin. Yapışık hücreler için, süspansiyonu iki T25 kültür şişesi arasında bölün; süspansiyon kültürleri için, etkili hücre etkileşimini ve büyümesini teşvik etmek üzere tüm ortamı tek bir T25 şişesine aktarın.
8. Hücre hattının sürekli büyümesi ve bakımı için belirlenmiş alt kültür protokollerine uyun ve güvenilir deneysel sonuçlar elde edin.

Incubation Atmosphere

37°C, %5_{CO2}, nemlendirilmiş atmosfer.

Flask Coating

Yok

Freezing Procedure

Kriyoprezerve edilmiş hücre hatları, nakliye boyunca yaklaşık -78 °C'yi korumak için yeterli soğutucu akışkan içeren, onaylanmış, yalıtılmış ambalajlarda kuru buz üzerinde gönderilir. Teslim aldığınızda, kabı hemen inceleyin ve flakonları gecikmeden uygun depoya aktarın.

Shipping Conditions

Kriyoprezerve edilmiş hücre hatları, nakliye boyunca yaklaşık -78 °C'yi korumak için yeterli soğutucu akışkan içeren, onaylanmış, yalıtılmış ambalajlarda kuru buz üzerinde gönderilir. Teslim aldığınızda, kabı hemen inceleyin ve flakonları gecikmeden uygun depoya aktarın.

HCE-T Hücreleri | 305255

Storage Conditions

Uzun süreli muhafaza için flakonları yaklaşık -150 ila -196 °C'de buhar fazlı sıvı nitrojen içine yerleştirin. 80 °C'de saklama yalnızca sıvı nitrojene aktarılmadan önce kısa bir ara adım olarak kabul edilebilir.

Kalite kontrol / Genetik profil / HLA

Sterility

Mikoplazma kontaminasyonu hem PCR tabanlı tahliller hem de lüminesans tabanlı mikoplazma tespit yöntemleri kullanılarak dışlanır.

Bakteriyel, fungal veya maya kontaminasyonu olmadığından emin olmak için hücre kültürleri günlük görsel incelemelere tabi tutulur.