

Клітини HCE-T | 305255

Загальна інформація

Description

HCE-T — це трансформована вірусом SV40 лінія клітин епітелію рогівки людини, отримана з первинного епітелію рогівки людини. Лінія була створена шляхом інфікування рекомбінантним гібридним вектором SV40-аденовірусу (Ad-SV40), що забезпечило стабільну експресію великого Т-антигену SV40 та безперервну проліферацію. Первинна характеристика була спрямована саме на створення лінії клітин епітелію рогівки, здатної до безперервного росту без виділення вільних вірусних частинок.

У культурі клітини HCE-T демонструють типову епітеліальну «бруківкову» морфологію та ростуть у вигляді адгезивних моношарів. Повідомлялося про ультраструктурні епітеліальні особливості, такі як десмосоми та апікальні мікровілі, а клітини описували як такі, що продукують пов'язаний з рогівкою кератин молекулярною масою 64 кДа. За відповідних умов диференціації (наприклад, культивування на межі повітря-рідина на колагені) клітини HCE-T можуть утворювати багатошарові, стратифіковані структури та розвивати вимірювані бар'єрні властивості, що підтримує їх використання в дослідженнях поверхні ока.

Клітини HCE-T широко використовуються для вивчення бар'єрної функції епітелію рогівки, проникності та впливу препаратів, процесів, пов'язаних з міграцією/відновленням, а також клітинних реакцій на запальні або подразнювальні подразники. Однак патерни експресії транспортерів та профілі маркерів диференціації можуть відрізнятися від нативного епітелію рогівки людини та від первинних систем лімбального/рогівкового епітелію. Тому клітини HCE-T найкраще підходять для механістичних та порівняльних досліджень *in vitro*, тоді як пряму кількісну екстраполяцію на *in vivo* абсорбцію рогівки людини або біологію диференціації рогівки слід проводити з обережністю.

Organism

Людина

Tissue

Око, рогівка, епітелій

Synonyms

HCET, трансформовані епітеліальні клітини рогівки людини, HCE, SV40-HCEC

Характеристики

Age

49 років

Gender

Жінка

Ethnicity

Японський

Morphology

Епітеліальний

Cell type

Епітеліальна клітина

Growth properties

Адепт

Клітини HCE-T | 305255

Нормативні дані

Citation	HCE-T (номер за каталогом Cytion 305255)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_1272
GMO Status	ГМО-S1: Ця лінія епітеліальних клітин рогівки людини (HCE-T) містить конструкцію раннього регіону SV40 (вектор RSV-T / pRSV-T), що забезпечує іморталізацію. Вставка стабільно інтегрується в первинні епітеліальні клітини рогівки людини. Ця класифікація застосовується лише в Німеччині і може відрізнитися в інших країнах.

Біомолекулярні дані

Viruses	Трансформант: плазмиду RSV-T (pRSV-T). Ця плазміда являє собою орі-конструкцію SV40, що містить гени ранньої ділянки SV40 та довгий кінцевий повтор вірусу саркоми Рус.
Products	Кератин (64kD)

Обробка

Culture Medium	DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 г/л Глюкоза, w: 2,5 мМ L-глутамін, w: 15 мМ HEPES, w: 0,5 мМ Піруват натрію, w: 1,2 г/л NaHCO ₃ (цит. номер 820400a)
Supplements	Додайте до середовища 5% FBS, 1% ITS (0,625 мг/мл людського інсуліну, 0,625 мг/мл людського трансферину, 0,625 мкг/мл селеніту натрію, 0,535 мг/мл лінолевої кислоти, 125 мг/мл BSA) та 10 нг/мл людського EGF
Dissociation Reagent	Аккутаза

Subculturing Видаліть старе середовище з прилиплих клітин і промийте їх PBS, в якому бракує кальцію і магнію. Для колб T25 використовуйте 3-5 мл PBS, а для колб T75 - 5-10 мл. Потім повністю покрийте клітини аккутазою, використовуючи 1-2 мл для колб T25 і 2,5 мл для колб T75. Залиште клітини інкубуватися при кімнатній температурі протягом 8-10 хвилин, щоб відокремити їх. Після інкубації обережно змішайте клітини з 10 мл середовища, щоб ресуспендувати їх, а потім центрифугуйте при 300xg протягом 3 хвилин. Викиньте надосадову рідину, ресуспендуйте клітини у свіжому середовищі та перенесіть їх у нові колби, які вже містять свіже середовище.

Клітини HCE-T | 305255

Freeze medium

Як середовище криоконсервування ми використовуємо повне живильне середовище (включаючи FBS) + 10% ДМСО для адекватної життєздатності після відтавання або CM-1 (номер за каталогом Cytion 800100), до складу якого входять оптимізовані осмопротектори та метаболічні стабілізатори для прискорення відновлення та зменшення кріоіндукованого стресу.

Thawing and Culturing Cells

1. Переконайтеся, що віал залишається глибоко замороженим після доставки, оскільки клітини транспортуються на сухому льоду для підтримання оптимальної температури під час транспортування.
2. Після отримання негайно зберігайте кріовіал при температурі нижче -150°C , щоб забезпечити збереження клітинної цілісності, або перейдіть до кроку 3, якщо потрібне негайне культивування.
3. Для негайного культивування швидко розморозьте віал, зануливши його у водяну баню з чистою водою і антимікробним засобом при температурі 37°C , обережно перемішуючи протягом 40-60 секунд, поки не залишиться невелика крижана грудка.
4. Всі наступні кроки виконуйте в стерильних умовах у проточній витяжній шафі, дезінфікуючи кріовіал 70% етанолом перед відкриттям.
5. Обережно відкрийте продезінфікований флакон і перенесіть клітинну суспензію в 15 мл центрифужну пробірку, що містить 8 мл культурального середовища кімнатної температури, обережно перемішуючи.
6. Відцентрифугуйте суміш при $300 \times g$ протягом 3 хвилин, щоб відокремити клітини, і обережно викиньте надосадову рідину, що містить залишки заморожувального середовища.
7. Обережно ресуспендуйте осад клітин у 10 мл свіжого культурального середовища. Для адгезивних клітин розділіть суспензію між двома культуральними колбами T25; для суспензійних культур перенесіть все середовище в одну колбу T25, щоб сприяти ефективній взаємодії та росту клітин.
8. Дотримуйтесь встановлених протоколів субкультивування для продовження росту і підтримання клітинної лінії, забезпечуючи надійні результати експерименту.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , волога атмосфера.

Flask Coating

Hi

Клітини HCE-T | 305255

Freezing Procedure

Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевірній ізольованій упаковці з достатньою кількістю холодоагенту для підтримання температури приблизно -78 °C під час транспортування. При отриманні негайно огляньте контейнер і негайно перемістіть віали у відповідне місце для зберігання.

Shipping Conditions

Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевірній ізольованій упаковці з достатньою кількістю холодоагенту для підтримання температури приблизно -78 °C під час транспортування. При отриманні негайно огляньте контейнер і негайно перемістіть віали у відповідне місце для зберігання.

Storage Conditions

Для тривалого зберігання помістіть флакони в парофазний рідкий азот при температурі від -150 до -196 °C. Зберігання при -80 °C допустиме лише як короткий проміжний етап перед перенесенням у рідкий азот.

Контроль якості / Генетичний профіль / HLA

Sterility

Зараження мікоплазмою виключається за допомогою аналізів на основі ПЛР та люмінесцентних методів виявлення мікоплазми.

Щоб переконатися у відсутності бактеріального, грибового або дріжджового забруднення, клітинні культури піддаються щоденному візуальному контролю.