HCE-T

305255

ÜLDINE TEAVE

Kirjeldus

HCE-T on SV40-ga transformeeritud inimese sarvkesta epiteelirakkude liin, mis on saadud inimese primaarsest sarvkesta epiteelist. Liin loodi nakatamisega rekombinantse SV40–adenoviiruse hübriidvektoriga (Ad–SV40), mis võimaldab SV40 suure T-antigeeni stabiilset ekspressiooni ja pidevat proliferatsiooni. Algse iseloomustamise eesmärk oli luua pidevalt kasvav sarvkesta epiteelirakkude liin, mis ei erita vabasid viirusosakesi.
Kultuuris näitavad HCE-T rakud tüüpilist epiteeli „munakivimorfoloogiat" ja kasvavad adhesiivsetena monokihina. On kirjeldatud epiteeli ultrastruktuurilisi tunnuseid, nagu desmosoomid ja apikaalsed mikrovillid, ning on märgitud, et rakud toodavad sarvkestaga seotud 64 kD keratiini. Sobivates diferentseerumistingimustes (nt õhk-vedeliku piiri kultuur kollageenil) võivad HCE-T-rakud moodustada mitmekihilisi, kihistunud struktuure ja arendada mõõdetavaid barjääriomadusi, mis toetab nende kasutamist silma pinna uuringutes.
HCE-T-rakke kasutatakse laialdaselt sarvkesta epiteeli barjäärifunktsiooni, läbilaskvuse ja ravimvormide mõju, rände/paranemisega seotud protsesside ning rakkude reaktsioonide uurimiseks põletikulistele või ärritavatele stiimulitele. Siiski võivad transpordivalkude ekspressioonimustrid ja diferentseerumismarkerite profiilid erineda loomulikust inimese sarvkestast ja primaarsetest limbaalsetest/sarvkesta epiteelisüsteemidest. Seetõttu sobivad HCE-T-rakud kõige paremini mehhanistilisteks ja võrdlevateks in vitro uuringuteks, samas kui otsest kvantitatiivset ekstrapoleerimist in vivo inimese sarvkesta imendumise või sarvkesta diferentseerumise bioloogia suhtes tuleks teha ettevaatusega.

Kude	Silm, sarvkest, epiteel

Sünonüümid

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

KLASSIFIKATSIOON

Organism	Inimene
Sugu	Naine
Kasvuvõime	Järgija
GMO-staatus	GMO-S1

GMO-staatuse üksikasjad

GMO-S1: This human corneal epithelial cell line (HCE-T) contains an SV40 early-region construct (RSV-T / pRSV-T vector), enabling immortalization. The insert is stably integrated into primary human corneal epithelial cells. This classification applies only within Germany and may differ elsewhere.

Bioloogilise ohutuse tase	1

OMADUSED

Morfoloogia	Epiteel
Rakutüüp	Epiteelirakk

Cytion GmbH
Nikola-Tesla-Str. 3
69124 Heidelberg
Tel: +49 (0)6221 405780
info@cytion.com
cytion.com

Registered office Heidelberg
VAT ID: DE283292917
Local court Mannheim - HRB 714394
CEO / Geschäftsführer: Jonathan Steubing

Banking information
Sparkasse Heidelberg
IBAN: DE35 6725 0020 0009 2076 86
BIC: SOLADES1HDB

TUNNUSED

Viide

HCE-T (Cytioni kataloginumber 305255)

NCBI maksukood	9606
Cellosaurus	CVCL_1272

AVALDUMINE JA VASTUVÕTLIKKUS

Viirused

Transformant: plasmiid RSV-T (pRSV-T). See plasmiid on SV40 ori-konstruktsioon, mis sisaldab SV40 varase piirkonna geene ja Rous sarkoomiviiruse pikka terminaalset kordust.

Tooted

Keratiin (64kD)

KÄSITLEMINE JA KASVATAMINE

Kasvatuskeskkond

DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/L glükoosi, w: 2,5 mM L-glutamiini, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM naatriumpüruvaati, w: 1,2 g/L NaHCO3 (Cytioni artikli number 820400a)

Inkubatsiooni keskkond	37°C, 5%CO2, niisutatud atmosfäär.

Toidulisandid

Täiendada söötme 5% FBS, 1% ITS (0,625 mg/ml inimese insuliini, 0,625 mg/ml inimese transferriini, 0,625 mikrogrammi/ml naatriumseleniiti, 0,535 mg/ml linoolhapet, 125 mg/ml BSA) ja 10 ng/ml inimese EGFi

Dissotsiatsioonireaktiiv	Accutase

Kultuuri edasikasvatamine

Eemaldage kleepunud rakkudelt vana söötme ja peske neid PBS-ga, milles puudub kaltsium ja magneesium. T25 kolbide puhul kasutage 3-5 ml PBS-i ja T75 kolbide puhul 5-10 ml. Seejärel katke rakud täielikult Accutase'iga, kasutades 1-2 ml T25 kolbide puhul ja 2,5 ml T75 kolbide puhul. Laske rakkudel inkubeerida 8-10 minutit toatemperatuuril, et need eralduksid. Pärast inkubeerimist segage rakud ettevaatlikult 10 ml söötmega, et neid resuspenseerida, seejärel tsentrifuugige 3 minutit 300xg juures. Visake supernatant ära, suspenseerige rakud uuesti värskes keskkonnas ja viige need uutesse kolvidesse, mis sisaldavad juba värsket keskkonda.

Sulatamine ja kasvatamine

Confirm that the vial remains deeply frozen upon delivery, as cells are shipped on dry ice to maintain optimal temperatures during transit.
Upon receipt, either store the cryovial immediately at temperatures below -150°C to ensure the preservation of cellular integrity, or proceed to step 3 if immediate culturing is required.
For immediate culturing, swiftly thaw the vial by immersing it in a 37°C water bath with clean water and an antimicrobial agent, agitating gently for 40-60 seconds until a small ice clump remains.
Perform all subsequent steps under sterile conditions in a flow hood, disinfecting the cryovial with 70% ethanol before opening.
Carefully open the disinfected vial and transfer the cell suspension into a 15 ml centrifuge tube containing 8 ml of room-temperature culture medium, mixing gently.
Centrifuge the mixture at 300 x g for 3 minutes to separate the cells and carefully discard the supernatant containing residual freezing medium.
Gently resuspend the cell pellet in 10 ml of fresh culture medium. For adherent cells, divide the suspension between two T25 culture flasks; for suspension cultures, transfer all the medium into one T25 flask to promote effective cell interaction and growth.
Adhere to established subculture protocols for continued growth and maintenance of the cell line, ensuring reliable experimental outcomes.

KVALITEEDIKONTROLL JA KRÜOKONSERVEERIMINE

Viljatus

Mükoplasmakontaminatsioon on välistatud nii PCR-põhiste analüüside kui ka luminestsentsil põhinevate mükoplasma tuvastamise meetodite abil.
Bakteriaalse, seene- või pärmsaaste puudumise tagamiseks kontrollitakse rakukultuure iga päev visuaalselt.

Külmutuskeskkond	Krüosäilitusvedelikusena kasutame täielikku kasvukeskkonda (sh FBS) + 10% DMSO, et tagada piisav elujõulisus pärast sulatamist, või CM-1 (Cytioni katalooginumber 800100), mis sisaldab optimeeritud osmoprotektante ja metaboolseid stabilisaatoreid, et parandada taastumist ja vähendada krüostressi.

Säilitamistingimused

Pikaajaliseks säilitamiseks asetage viaalid aurufaasis vedela lämmastikuga umbes -150 kuni -196 °C juures. Säilitamine temperatuuril -80 °C on vastuvõetav ainult lühikese vaheetapina enne vedela lämmastikuga üleviimist.

Tarne- ja kohaletoimetamistingimused

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu -78 °C. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige viaalid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

ANNETAJA

Doonori vanus	49 aastat
Etniline kuuluvus	Jaapani

ÕIGUSLIKUD JA OHUTUSALASED KÜSIMUSED

Ohutusnõuded

Kui plaanitakse krüoviaalide säilitamist vedelas lämmastikus tulevase sulatamise eesmärgil, on kohustuslik järgida rangeid ohutusmeetmeid. Asjakohased kaitsekindad ja -riietus on hädavajalikud ning külmutatud proovide vedela lämmastiku mahutisse või mahutist väljaviimisel tuleb kasutada näomaski või kaitseprille. See on vajalik selleks, et vähendada vigastuste ohtu, mis tuleneb võimalikest krüoviaalide plahvatustest eemaldamisel, mille tagajärjel võivad välja paiskuda teravad killud.

Garantii

Cytion seisab oma toodete kvaliteedi ja elujõulisuse eest.
Me garanteerime, et meie rakud on elujõulised kasvatamise alguses 60 päeva jooksul pärast meie rajatistest saatmist.
Tagame, et kõik materjalid vastavad analüüsisertifikaadis ja/või tootelehel kirjeldatud spetsifikatsioonidele
Täielikke üksikasju leiate meie <a href="""/Who-we-are/Warranty/"" hreflang="""x-default"">Tagatise avaldusest

Vajalik on materjalide üleandmise leping	Yes

TOOTE ÜKSIKASJAD

Koostis tabel