HCE-T

305255

INFORMACJE OGÓLNE

Opis

HCE-T to transformowana wirusem SV40 ludzka linia komórek nabłonka rogówki, wyhodowana z pierwotnego nabłonka rogówki człowieka. Linia ta została uzyskana poprzez zakażenie rekombinowanym wektorem hybrydowym SV40–adenowirusa (Ad–SV40), co umożliwiło stabilną ekspresję dużego antygenu 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, stratyfikowane 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 tych występujących w naturalnej rogówce człowieka oraz w pierwotnych układach nabłonka rąbka i 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.

Chusteczka	Oko, rogówka, nabłonek

Synonimy

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

KLASYFIKACJA

Organizm	Człowiek
Seks	Kobieta
Właściwości związane ze wzrostem	Zwolennik
Status GMO	GMO-S1

Szczegółowe informacje dotyczące statusu GMO

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.

Poziom bezpieczeństwa biologicznego	1

CECHY CHARAKTERYSTYCZNE

Morfologia	Nabłonek
Typ komórki	Komórka nabłonkowa

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

IDENTYFIKATORY

Źródło

HCE-T (numer katalogowy Cytion 305255)

Numer identyfikacji podatkowej NCBI	9606
Cellosaurus	CVCL_1272

EKSPRESJA I PODATNOŚĆ

Wirusy

Transformant: plazmid RSV-T (pRSV-T). Plazmid ten jest ori konstruktem SV40 zawierającym geny wczesnego regionu SV40 i długie powtórzenie terminalne wirusa mięsaka Rous.

Produkty

Keratyna (64kD)

POSTĘPOWANIE I HODOWLA

Pożywka hodowlana

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 NaHCO3 (numer artykułu Cytion 820400a)

Atmosfera inkubacyjna	37°C, 5%CO2, nawilżona atmosfera.

Suplementy

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

Odczynnik dysocjacyjny	Accutase

Hodowla komórek w subkulturze

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. Odrzucić supernatant, ponownie zawiesić komórki w świeżej pożywce i przenieść je do nowych kolb zawierających już świeżą pożywkę.

Rozmrażanie i hodowla

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.

KONTROLA JAKOŚCI I KRIOKONSERWACJA

Bezpłodność

Zanieczyszczenie mykoplazmą jest wykluczane 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.

Pożywka do zamrażania	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.

Warunki przechowywania

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.

Warunki wysyłki

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.

DARCZYŃCA

Wiek dawcy	49 lat
Pochodzenie etniczne	Japoński

KWESTIE PRAWNE I BEZPIECZEŃSTWO

Środki bezpieczeństwa

Planując przechowywanie kriofiolek w ciekłym azocie w celu ich późniejszego rozmrożenia, należy bezwzględnie przestrzegać rygorystycznych środków bezpieczeństwa. Niezbędne są odpowiednie rękawice i odzież ochronna, a podczas przenoszenia zamrożonych próbek do lub ze zbiornika z ciekłym azotem wymagane jest stosowanie maski lub okularów ochronnych. Ma to na celu zmniejszenie ryzyka obrażeń spowodowanych potencjalnymi eksplozjami kriowialu podczas wyjmowania, które mogą skutkować wyrzuceniem ostrych fragmentów.

Gwarancja

W Cytion gwarantujemy jakość i żywotność naszych produktów.
Gwarantujemy, że nasze komórki będą żywotne na początku hodowli przez 60 dni po wysyłce z naszych zakładów.
Zapewniamy, że wszystkie materiały są zgodne ze specyfikacjami opisanymi w certyfikacie analizy i/lub karcie produktu
Szczegółowe informacje można znaleźć w naszej <a href=""/Who-we-are/Warranty/"" hreflang=""x-default"">Oświadczeniu gwarancyjnym

Wymagana umowa o transferze materiałów	Yes

SZCZEGÓŁY PRODUKTU

Tabela składu