

## Buňky HCE-T | 305255

## Obecné informace

## Description

HCE-T je lidská rohovková epitelální buněčná linie transformovaná virem SV40, odvozená z primárního lidského rohovkového epitelu. Tato linie byla vytvořena infekcí rekombinantním hybridním vektorem SV40–adenoviru (Ad–SV40), který umožňuje stabilní expresi velkého T-antigenu SV40 a nepřetržitou proliferaci. Původní charakterizace byla specificky zaměřena na vytvoření nepřetržitě rostoucí rohovkové epitelální buněčné linie bez uvolňování volných virových částic.

V kultuře vykazují buňky HCE-T typickou epitelální „dláždicovou“ morfologii a rostou jako adhezivní monovrstvy. Byly popsány ultrastrukturální epitelální znaky, jako jsou desmosomy a apikální mikrovilli, a bylo popsáno, že buňky produkují keratin o molekulové hmotnosti 64 kD asociovaný s rohovkou. Za vhodných diferenačních podmínek (např. kultivace na rozhraní vzduch–kapalina na kolagenu) mohou buňky HCE-T tvořit vícevrstvé, stratifikované struktury a vyvinout měřitelné bariérové vlastnosti, což podporuje jejich použití ve výzkumu očního povrchu.

Buňky HCE-T se široce používají ke studiu bariérové funkce rohovkového epitelu, permeability a účinků formulací, procesů souvisejících s migrací/opravou a buněčných reakcí na zánětlivé nebo dráždivé podněty. Vzory exprese transportérů a profily diferenačních markerů se však mohou lišit od přirozené lidské rohovky a od primárních limbálních/rohovkových epitelových systémů. Proto jsou HCE-T nejvhodnější pro mechanistické a srovnávací in vitro studie, zatímco přímá kvantitativní extrapolace na in vivo absorpci lidské rohovky nebo biologii diferenciac rohovky by měla být prováděna s opatrností.

## Organism

Člověk

## Tissue

Okno, rohovka, epitel

## Synonyms

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

## Charakteristika

## Age

49 let

## Gender

Ženy

## Ethnicity

Japonský

## Morphology

Epitelové

## Cell type

Epitelová buňka

## Growth properties

Adherentní

## Buňky HCE-T | 305255

## Regulační údaje

<b>Citation</b>	HCE-T (katalogové číslo Cytion 305255)
<b>Biosafety level</b>	1
<b>NCBI_TaxID</b>	9606
<b>CellosaurusAccession</b>	CVCL_1272
<b>GMO Status</b>	GMO-S1: Tato linie lidských rohokvových epiteliálních buněk (HCE-T) obsahuje konstrukt s časnou oblastí SV40 (vektor RSV-T / pRSV-T), který umožňuje imortalizaci. Vložka je stabilně integrována do primárních lidských rohokvových epiteliálních buněk. Tato klasifikace platí pouze v Německu a jinde se může lišit.

## Biomolekulární data

<b>Viruses</b>	Transformant: plazmid RSV-T (pRSV-T). Tento plazmid je ori-konstrukt SV40 obsahující geny rané oblasti SV40 a dlouhou terminální repetici viru Rousova sarkomu.
<b>Products</b>	Keratin (64kD)

## Zpracování

<b>Culture Medium</b>	DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/l glukózy, w: 2,5 mM L-Glutaminu, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM pyruvátu sodného, w: 1,2 g/l NaHCO <sub>3</sub> (číslo výrobku Cytion 820400a)
<b>Supplements</b>	Doplňte médium o 5 % FBS, 1 % ITS (0,625 mg/ml lidského inzulínu, 0,625 mg/ml lidského transferinu, 0,625 mikrogramů/ml seleničitanu sodného, 0,535 mg/ml kyseliny linolové, 125 mg/ml BSA) a 10 ng/ml lidského EGF
<b>Dissociation Reagent</b>	Accutase
<b>Subculturing</b>	Odstraňte staré médium z adheovaných buněk a promyjte je PBS bez vápníku a hořčíku. Pro baňky T25 použijte 3-5 ml PBS a pro baňky T75 5-10 ml. Poté buňky zcela zakryjte přípravkem Accutase, přičemž použijte 1-2 ml pro baňky T25 a 2,5 ml pro baňky T75. Nechte buňky inkubovat při pokojové teplotě po dobu 8-10 minut, aby se oddělily. Po inkubaci jemně promíchejte buňky s 10 ml média, aby byly znovu suspendovány, a poté je odstředte při 300xg po dobu 3 minut. Supernatant vyhodte, buňky znovu rozpustte v čerstvém médiu a přeneste je do nových baněk, které již obsahují čerstvé médium.
<b>Split ratio</b>	Doporučuje se poměr 1:8

**Buňky HCE-T | 305255****Freeze medium**

Jako kryokonzervační médium používáme kompletní růstové médium (včetně FBS) + 10 % DMSO pro zajištění dostatečné životaschopnosti po rozmrazení nebo CM-1 (katalogové číslo 800100 společnosti Cytion), které obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory pro zlepšení regenerace a snížení stresu způsobeného kryo.

**Thawing and Culturing Cells**

1. Ověřte si, že lahvička zůstane při dodání hluboce zmrazená, protože buňky se přepravují na suchém ledu, aby se během přepravy udržely optimální teploty.
2. Po obdržení kryovialku buď okamžitě uložte při teplotě nižší než -150 °C, abyste zajistili zachování buněčné integrity, nebo přejděte ke kroku 3, pokud je nutná okamžitá kultivace.
3. Pro okamžitou kultivaci rychle rozmrazte lahvičku ponořením do vodní lázně o teplotě 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálním prostředkem a jemně ji míchejte po dobu 40-60 sekund, dokud nezůstane malý ledový chuchvalec.
4. Všechny další kroky provádějte za sterilních podmínek v průtokové digestoři a před otevřením kryovialku dezinfikujte 70% ethanolem.
5. Opatrně otevřete dezinfikovanou lahvičku a přeneste buněčnou suspenzi do 15 ml centrifugační zkumavky obsahující 8 ml kultivačního média o pokojové teplotě a jemně promíchejte.
6. Směs odstředujte při 300 x g po dobu 3 minut, aby se buňky oddělily, a supernatant obsahující zbytky mrazicího média opatrně zlikvidujte.
7. Pelety buněk jemně resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačního média. U adherentních buněk rozdělte suspenzi mezi dvě kultivační baňky T25; u suspenzních kultur přeneste veškeré médium do jedné baňky T25, abyste podpořili účinnou interakci a růst buněk.
8. Dodržujte zavedené subkultivační protokoly pro kontinuální růst a udržování buněčné linie, čímž zajistíte spolehlivé výsledky experimentů.

**Incubation Atmosphere**

37 °C, 5 %  $\text{CO}_2$ , zvlhčená atmosféra.

**Flask Coating**

Žádný

**Freezing Procedure**

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

## Buňky HCE-T | 305255

### Shipping Conditions

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

### Storage Conditions

Pro dlouhodobé uchování umístěte lahvičky do kapalného dusíku v plynné fázi při teplotě přibližně -150 až -196 °C. Skladování při -80 °C je přijatelné pouze jako krátký přechodný krok před přemístěním do kapalného dusíku.

## Kontrola kvality / Genetický profil / HLA

### Sterility

Kontaminace mykoplazmaty je vyloučena jak pomocí testů založených na PCR, tak pomocí luminiscenčních metod detekce mykoplazmy.

Aby se zajistilo, že nedojde ke kontaminaci bakteriemi, plísněmi nebo kvasinkami, jsou buněčné kultury denně podrobovány vizuálním kontrolám.