

HCE-T-celler | 305255

General information

Description

HCE-T er en SV40-transformeret human hornhindeepitelcellelinje, der stammer fra primært humant hornhindeepitel. Linjen blev etableret ved infektion med en rekombinant SV40-adenovirus-hybridvektor (Ad-SV40), hvilket muliggør stabil ekspression af SV40-stort T-antigen og kontinuerlig proliferation. Den oprindelige karakterisering havde specifikt til formål at frembringe en kontinuerligt voksende hornhindeepitelcellelinje uden udskillelse af frie viruspartikler.

I kultur viser HCE-T-celler typisk epitelial "brostensbelagt" morfologi og vokser som vedhæftende monolag. Ultrastrukturelle epitelegenskaber såsom desmosomer og apikale mikrovilli er blevet rapporteret, og cellerne er blevet beskrevet som producerende et hornhindeassocieret 64 kD keratin. Under egnede differentieringsbetingelser (f.eks. luft-væske-grænsefladekultur på kollagen) kan HCE-T-celler danne flerlagede, stratificerede strukturer og udvikle målbare barriereegenskaber, hvilket understøtter deres anvendelse i forskning i øjets overflade.

HCE-T-celler anvendes i vid udstrækning til at undersøge hornhindens epitelbarrierefunktion, permeabilitet og formuleringseffekter, migrations-/reparationsrelaterede processer samt cellulære reaktioner på inflammatoriske eller irriterende stimuli. Transportrødtryksmønstre og differentieringsmarkørprofiler kan dog afvige fra den naturlige menneskelige hornhinde og fra primære limbus-/hornhindeepitelsystemer. Derfor er HCE-T bedst egnet til mekanistiske og komparative in vitro-undersøgelser, mens direkte kvantitativ ekstrapolering til in vivo-absorption i den menneskelige hornhinde eller hornhindedifferentieringsbiologi bør udføres med forsigtighed.

Organism Menneske

Tissue Øje, hornhinde, epitel

Synonyms HCET, humane hornhindeepitelceller - transformerede, HCE, SV40-HCEC

Karakteristika

Age 49 år

Gender Kvinde

Ethnicity Japansk

Morphology Epitelial

Cell type Epitelcelle

Growth properties Vedhæftende

HCE-T-celler | 305255

Regulatoriske data

Citation	HCE-T (Cytion katalognummer 305255)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_1272
GMO Status	GMO-S1: Denne humane hornhindeepitelcellelinje (HCE-T) indeholder en SV40-konstruktion med tidlig region (RSV-T/pRSV-T-vektor), der muliggør udødeliggørelse. Indsatsen er stabilt integreret i primære humane hornhindeepitelceller. Denne klassificering gælder kun i Tyskland og kan variere andre steder.

Biomolekylære data

Viruses	Transformant: plasmid RSV-T (pRSV-T). Dette plasmid er en SV40 ori-konstruktion, der indeholder SV40 early region-gener og Rous sarcoma virus long terminal repeat.
Products	Keratin (64 kD)

Håndtering

Culture Medium	DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/L Glucose, w: 2,5 mM L-Glutamin, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM Sodium pyruvate, w: 1,2 g/L NaHCO ₃ (Cytion artikelnummer 820400a)
Supplements	Tilsæt mediet 5 % FBS, 1 % ITS (0,625 mg/mL humant insulin, 0,625 mg/mL humant transferrin, 0,625 mikrogram/mL natriumselenit, 0,535 mg/mL linolsyre, 125 mg/mL BSA) og 10 ng/mL humant EGF
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Fjern det gamle medium fra de klæbende celler, og vask dem med PBS, der ikke indeholder calcium og magnesium. Brug 3-5 ml PBS til T25-kolber og 5-10 ml til T75-kolber. Dæk derefter cellerne helt med Accutase, brug 1-2 ml til T25-kolber og 2,5 ml til T75-kolber. Lad cellerne inkubere ved stuetemperatur i 8-10 minutter for at løsne dem. Efter inkubationen blandes cellerne forsigtigt med 10 ml medium for at resuspendere dem, og centrifugeres derefter ved 300xg i 3 minutter. Kassér supernatanten, resuspend cellerne i frisk medium, og overfør dem til nye kolber, der allerede indeholder frisk medium.
Freeze medium	Som kryopræservesmedium bruger vi komplet vækstmedium (inklusive FBS) + 10 % DMSO for tilstrækkelig levedygtighed efter optøning eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som indeholder optimerede osmoteskyttende stoffer og metaboliske stabilisatorer for at forbedre genopretningen og reducere kryoinduceret stress.

HCE-T-celler | 305255

Thawing and Culturing Cells

1. Bekræft, at hætteglasset forbliver dybfrosset ved levering, da cellerne sendes på tøris for at opretholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved modtagelsen skal du enten straks opbevare kryohætteglasset ved temperaturer under $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ for at sikre, at cellernes integritet bevares, eller gå videre til trin 3, hvis øjeblikkelig dyrkning er påkrævet.
3. Ved øjeblikkelig dyrkning optøs hætteglasset hurtigt ved at nedsænke det i et $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ varmt vandbad med rent vand og et antimikrobielt middel og røre forsigtigt i 40-60 sekunder, indtil der kun er en lille isklump tilbage.
4. Udfør alle efterfølgende trin under sterile forhold i en flowhætte, og desinficer kryovialet med 70 % ethanol, før det åbnes.
5. Åbn forsigtigt det desinficerede hætteglas, og overfør cellesuspensionen til et 15 ml centrifugerør, der indeholder 8 ml kulturmedium ved stuetemperatur, og bland forsigtigt.
6. Centrifuger blandingen ved $300 \times g$ i 3 minutter for at adskille cellerne, og kassér omhyggeligt supernatanten, der indeholder resterende frysemedium.
7. Resuspender forsigtigt cellepelleten i 10 ml frisk dyrkningsmedium. For klæbende celler deles suspensionen mellem to T25-kulturkolber; for suspensionskulturer overføres alt mediet til en T25-kolbe for at fremme effektiv celleinteraktion og -vækst.
8. Overhold etablerede subkulturprotokoller for fortsat vækst og vedligeholdelse af cellelinjen, hvilket sikrer pålidelige eksperimentelle resultater.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , befugtet atmosfære.

Flask Coating

Ingen

Freezing Procedure

Kryopræservede cellelinjer sendes på tøris i valideret, isoleret emballage med tilstrækkeligt kølemiddel til at opretholde ca. $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hele transporten. Ved modtagelse skal beholderen straks inspiceres, og hætteglassene skal straks overføres til passende opbevaring.

Shipping Conditions

Kryopræservede cellelinjer sendes på tøris i valideret, isoleret emballage med tilstrækkeligt kølemiddel til at opretholde ca. $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hele transporten. Ved modtagelse skal beholderen straks inspiceres, og hætteglassene skal straks overføres til passende opbevaring.

HCE-T-celler | 305255

Storage Conditions

For langtidsopbevaring anbringes hætteglas i flydende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Opbevaring ved -80 °C er kun acceptabelt som et kort mellemtrin før overførsel til flydende nitrogen.

Kvalitetskontrol / Genetisk profil / HLA

Sterility

Mycoplasma-kontaminering udelukkes ved hjælp af både PCR-baserede assays og luminescensbaserede mycoplasma-detektionsmetoder.

For at sikre, at der ikke er nogen bakterie-, svampe- eller gærforurening, underkastes cellekulturerne daglige visuelle inspektioner.