

**HCE-T-Zellen | 305255**

**Allgemeine Informationen**

**Description**

HCE-T ist eine SV40-transformierte menschliche Hornhautepithelzelllinie, die aus primärem menschlichem Hornhautepithel gewonnen wurde. Die Linie wurde durch Infektion mit einem rekombinanten SV40-Adenovirus-Hybridvektor (Ad-SV40) etabliert, der eine stabile Expression des großen SV40-T-Antigens und eine kontinuierliche Proliferation ermöglicht. Die ursprüngliche Charakterisierung zielte speziell darauf ab, eine kontinuierlich wachsende Hornhautepithelzelllinie zu erzeugen, die keine freien Viruspartikel freisetzt.

In Kultur zeigen HCE-T-Zellen eine typische epitheliale „Kopfsteinpflaster“-Morphologie und wachsen als adhärenente Monoschichten. Es wurde über ultrastrukturelle Epithelmerkmale wie Desmosomen und apikale Mikrovilli berichtet, und es wurde beschrieben, dass die Zellen ein Hornhaut-assoziiertes 64-kD-Keratin produzieren. Unter geeigneten Differenzierungsbedingungen (z. B. Luft-Flüssigkeits-Grenzflächenkultur auf Kollagen) können HCE-T-Zellen mehrschichtige, stratifizierte Strukturen bilden und messbare Barriereigenschaften entwickeln, was ihre Verwendung in der Forschung zur Augenoberfläche unterstützt.

HCE-T-Zellen werden häufig zur Untersuchung der Barrierefunktion des Hornhautepithels, der Permeabilität und der Auswirkungen von Formulierungen, von Migrations- und Reparaturprozessen sowie der zellulären Reaktionen auf entzündliche oder reizende Stimuli eingesetzt. Allerdings können sich die Expressionsmuster von Transportern und die Profile der Differenzierungsmarker von denen der nativen menschlichen Hornhaut und von primären limbalen/hornhautepithelialen Systemen unterscheiden. Daher eignen sich HCE-T-Zellen am besten für mechanistische und vergleichende In-vitro-Studien, während eine direkte quantitative Extrapolation auf die In-vivo-Absorption in der menschlichen Hornhaut oder die Biologie der Hornhautdifferenzierung mit Vorsicht erfolgen sollte.

**Organism** Menschen

**Tissue** Auge, Hornhaut, Epithel

**Synonyms** HCET, Menschliche Hornhautepithelzellen - transformiert, HCE, SV40-HCEC

**Merkmale**

**Age** 49 Jahre

**Gender** Weiblich

**Ethnicity** Japanisch

**Morphology** Epithelial

**Cell type** Epithelzelle

**Growth properties** Adhärenent

## HCE-T-Zellen | 305255

## Regulatorische Daten

<b>Citation</b>	HCE-T (Cytion Katalognummer 305255)
<b>Biosafety level</b>	1
<b>NCBI_TaxID</b>	9606
<b>CellosaurusAccession</b>	CVCL_1272
<b>GMO Status</b>	GVO-S1: Diese humane Hornhautepithelzelllinie (HCE-T) enthält ein Konstrukt der frühen SV40-Region (RSV-T / pRSV-T-Vektor), das eine Immortalisierung ermöglicht. Das Insert wird stabil in primäre humane Hornhautepithelzellen integriert. Diese Klassifizierung gilt nur innerhalb Deutschlands und kann in anderen Ländern abweichen.

## Biomolekulare Daten

<b>Viruses</b>	Transformant: Plasmid RSV-T (pRSV-T). Dieses Plasmid ist ein SV40-Ori-Konstrukt, das die Gene der frühen SV40-Region und die lange terminale Wiederholung des Rous-Sarkom-Virus enthält.
<b>Products</b>	Keratin (64kD)

## Handhabung

<b>Culture Medium</b>	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 Natriumpyruvat, w: 1,2 g/L NaHCO <sub>3</sub> (Cytion-Artikelnummer 820400a)
<b>Supplements</b>	Ergänzen Sie das Medium mit 5% FBS, 1% ITS (0,625 mg/mL Humaninsulin, 0,625 mg/mL Human-Transferrin, 0,625 Mikrogramm/mL Natriumselenit, 0,535 mg/mL Linolsäure, 125 mg/mL BSA) und 10 ng/mL Human-EGF
<b>Dissociation Reagent</b>	Accutase
<b>Subculturing</b>	Entfernen Sie das alte Medium von den adhärennten Zellen und waschen Sie sie mit PBS, das kein Kalzium und Magnesium enthält. Für T25-Kolben 3-5 ml PBS und für T75-Kolben 5-10 ml verwenden. Anschließend werden die Zellen vollständig mit Accutase bedeckt, wobei 1-2 ml für T25-Kolben und 2,5 ml für T75-Kolben verwendet werden. Lassen Sie die Zellen 8-10 Minuten bei Raumtemperatur inkubieren, um sie abzulösen. Nach der Inkubation mischen Sie die Zellen vorsichtig mit 10 ml Medium, um sie zu resuspendieren, und zentrifugieren sie dann 3 Minuten lang bei 300xg. Den Überstand verwerfen, die Zellen in frischem Medium resuspendieren und in neue Kolben überführen, die bereits frisches Medium enthalten.
<b>Split ratio</b>	Es wird ein Verhältnis von 1:8 empfohlen

## HCE-T-Zellen | 305255

### Freeze medium

Als Kryokonservierungsmedium verwenden wir komplettes Wachstumsmedium (einschließlich FBS) + 10 % DMSO für eine angemessene Lebensfähigkeit nach dem Auftauen oder CM-1 (Cytion Katalognummer 800100), das optimierte Osmoprotektoren und Stoffwechselstabilisatoren enthält, um die Erholung zu verbessern und kryoinduzierten Stress zu reduzieren.

### Thawing and Culturing Cells

1. Vergewissern Sie sich, dass das Fläschchen bei der Lieferung tiefgefroren ist, da die Zellen auf Trockeneis versandt werden, um während des Transports optimale Temperaturen zu erhalten.
2. Lagern Sie das Kryofläschchen nach Erhalt entweder sofort bei Temperaturen unter  $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ , um die Unversehrtheit der Zellen zu gewährleisten, oder fahren Sie mit Schritt 3 fort, wenn eine sofortige Kultivierung erforderlich ist.
3. Für eine sofortige Kultivierung tauen Sie das Fläschchen schnell auf, indem Sie es in ein  $37^{\circ}\text{C}$  warmes Wasserbad mit sauberem Wasser und einem antimikrobiellen Mittel eintauchen und 40-60 Sekunden lang vorsichtig schütteln, bis ein kleiner Eisklumpen zurückbleibt.
4. Führen Sie alle weiteren Schritte unter sterilen Bedingungen in einer Abzugshaube durch und desinfizieren Sie das Kryo-Fläschchen vor dem Öffnen mit 70%igem Ethanol.
5. Das desinfizierte Fläschchen vorsichtig öffnen und die Zellsuspension unter vorsichtigem Mischen in ein 15-ml-Zentrifugenröhrchen mit 8 ml Kulturmedium bei Raumtemperatur überführen.
6. Zentrifugieren Sie das Gemisch 3 Minuten lang bei  $300 \times g$ , um die Zellen abzutrennen, und werfen Sie den Überstand mit dem restlichen Gefriermedium vorsichtig.
7. Das Zellpellet vorsichtig in 10 ml frischem Kulturmedium resuspendieren. Bei adhärennten Zellen die Suspension auf zwei T25-Kulturflaschen aufteilen; bei Suspensionskulturen das gesamte Medium in eine T25-Flasche überführen, um eine effektive Zellinteraktion und ein effektives Wachstum zu fördern.
8. Halten Sie sich an die festgelegten Subkulturprotokolle, um ein kontinuierliches Wachstum und die Aufrechterhaltung der Zelllinie zu gewährleisten und zuverlässige Versuchsergebnisse zu erzielen.

### Incubation Atmosphere

$37^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , befeuchtete Atmosphäre.

### Flask Coating

Keine

### Freezing Procedure

Kryokonservierte Zelllinien werden auf Trockeneis in einer validierten, isolierten Verpackung mit ausreichend Kühlmittel versandt, um während des gesamten Transports eine Temperatur von etwa  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$  aufrechtzuerhalten. Prüfen Sie den Behälter bei Erhalt sofort und bringen Sie die Fläschchen unverzüglich in ein geeignetes Lager.

## HCE-T-Zellen | 305255

### Shipping Conditions

Kryokonservierte Zelllinien werden auf Trockeneis in einer validierten, isolierten Verpackung mit ausreichend Kühlmittel versandt, um während des gesamten Transports eine Temperatur von etwa -78 °C aufrechtzuerhalten. Prüfen Sie den Behälter bei Erhalt sofort und bringen Sie die Fläschchen unverzüglich in ein geeignetes Lager.

### Storage Conditions

Zur Langzeitkonservierung werden die Fläschchen in flüssigem Stickstoff bei etwa -150 bis -196 °C gelagert. Eine Lagerung bei -80 °C ist nur als kurzer Zwischenschritt vor der Überführung in flüssigen Stickstoff akzeptabel.

## Qualitätskontrolle / Genetisches Profil / HLA

### Sterility

Eine Kontamination mit Mykoplasmen wird sowohl durch PCR-basierte Assays als auch durch lumineszenzbasierte Mykoplasmen-Nachweisverfahren ausgeschlossen.

Um sicherzustellen, dass keine Kontamination mit Bakterien, Pilzen oder Hefen vorliegt, werden die Zellkulturen täglich visuell überprüft.