**Product sheet**

# Κύτταρα HCE-T | 305255

## Γενικές πληροφορίες

| | |
|---|---|
| **Description** | Η κυτταρική σειρά HCE-T προέρχεται από ανθρώπινα επιθηλιακά κύτταρα του κερατοειδούς και έχει αθανατιστεί με διαμόλυνση με το πλασμίδιο RSV-T (pRSV-T). Αυτό το πλασμίδιο φέρει μια προέλευση αντιγραφής SV40 (SV40 ori) και περιλαμβάνει τα γονίδια της πρώιμης περιοχής SV40 μαζί με τη μακρά τελική επανάληψη του ιού του σαρκώματος Rous (RSV-LTR). Αυτή η γενετική τροποποίηση επιτρέπει στα κύτταρα HCE-T να παρακάμπτουν τη φυσιολογική γήρανση, επιτρέποντας απεριόριστο πολλαπλασιασμό. Παρά την αθανασία τους, τα κύτταρα αυτά διατηρούν πολλά από τα λειτουργικά και φαινοτυπικά χαρακτηριστικά των πρωτογενών επιθηλιακών κυττάρων του κερατοειδούς, συμπεριλαμβανομένης της τυπικής επιθηλιακής μορφολογίας, της ικανότητας σχηματισμού προσκολλημένων μονοστρωμάτων και της έκφρασης κυτταροκερατινών και άλλων βασικών επιθηλιακών δεικτών. Ως αποτέλεσμα, τα κύτταρα HCE-T αποτελούν ανεκτίμητη πηγή για την in vitro οφθαλμική έρευνα.<br><br>Τα κύτταρα HCE-T χρησιμοποιούνται ευρέως για τη διερεύνηση διαφόρων πτυχών της βιολογίας του επιθηλίου του κερατοειδούς, όπως η κυτταρική προσκόλληση, η μετανάστευση, η διαφοροποίηση και η απόκριση σε εξωτερικά ερεθίσματα, συμπεριλαμβανομένων των θεραπευτικών παραγόντων και των περιβαλλοντικών στρεσογόνων παραγόντων. Η ικανότητά τους να μιμούνται τις in vivo συνθήκες του κερατοειδούς τα καθιστά ιδιαίτερα σημαντικά για τη μελέτη ασθενειών του κερατοειδούς, όπως το σύνδρομο ξηροφθαλμίας, η κερατίτιδα και τα έλκη του κερατοειδούς. Τα κύτταρα αυτά χρησιμεύουν ως σημαντικό μοντέλο για τη διερεύνηση των μηχανισμών των ασθενειών και τη δοκιμή πιθανών θεραπειών. Επιπλέον, τα κύτταρα HCE-T διαδραματίζουν κρίσιμο ρόλο στην ανάπτυξη και δοκιμή φαρμάκων για οφθαλμικές εφαρμογές, προσφέροντας μια αξιόπιστη πλατφόρμα για την αξιολόγηση της ασφάλειας και της αποτελεσματικότητας νέων φαρμάκων και συστημάτων χορήγησης φαρμάκων. Η ικανότητά τους για μακροχρόνια καλλιέργεια επιτρέπει συνεχείς ερευνητικές προσπάθειες, προωθώντας την ανάπτυξη νέων θεραπειών με στόχο τη βελτίωση της οφθαλμικής υγείας. |
| **Organism** | Ανθρώπινο |
| **Tissue** | Μάτι, κερατοειδής, επιθήλιο |
| **Synonyms** | HCET, Ανθρώπινα επιθηλιακά κύτταρα κερατοειδούς-μετασχηματισμένα, HCE, SV40-HCEC |

## Χαρακτηριστικά

| | |
|---|---|
| **Age** | 49 χρόνια |
| **Gender** | Γυναίκα |
| **Ethnicity** | Ιαπωνικά |
| **Morphology** | Επιθηλιακό |
| **Cell type** | Επιθηλιακό κύτταρο |

# Κύτταρα HCE-T | 305255

| | |
|---|---|
| **Growth properties** | Προσκολλημένο |

## Ρυθμιστικά δεδομένα

| | |
|---|---|
| **Citation** | HCE-T (αριθμός καταλόγου Cytion 305255) |
| **Biosafety level** | 1 |
| **NCBI_TaxID** | 9606 |
| **CellosaurusAccession** | CVCL_1272 |
| **GMO Status** | ΓΤΟ-S1: Αυτή η σειρά ανθρώπινων επιθηλιακών κυττάρων κερατοειδούς (HCE-T) περιέχει μια κατασκευή πρώιμης περιοχής SV40 (φορέας RSV-T / pRSV-T), που επιτρέπει την αθανασία. Το ένθετο ενσωματώνεται σταθερά σε πρωτογενή ανθρώπινα επιθηλιακά κύτταρα κερατοειδούς. Αυτή η ταξινόμηση ισχύει μόνο εντός της Γερμανίας και ενδέχεται να διαφέρει αλλού. |

## Βιομοριακά δεδομένα

| | |
|---|---|
| **Viruses** | Μετασχηματιστής: πλασμίδιο RSV-T (pRSV-T). Αυτό το πλασμίδιο είναι ένα SV40 ori-construct που περιέχει τα γονίδια της πρώιμης περιοχής SV40 και τη μακρά τελική επανάληψη του ιού του σαρκώματος Rous. |
| **Products** | Κερατίνη (64kD) |

## Χειρισμός

| | |
|---|---|
| **Culture Medium** | DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/L γλυκόζη, w: 2,5 mM L-γλουταμίνη, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM πυρουβικό νάτριο, w: 1,2 g/L NaHCO3 (αριθμός άρθρου Cytion 820400a) |
| **Supplements** | Συμπληρώστε το μέσο με 5% FBS, 1% ITS (0,625 mg/mL ανθρώπινη ινσουλίνη, 0,625 mg/mL ανθρώπινη τρανσφερρίνη, 0,625 μικρογραμμάρια/ml σεληνίτη νατρίου, 0,535 mg/mL λινολεϊκό οξύ, 125 mg/mL BSA) και 10 ng/mL ανθρώπινο EGF |
| **Dissociation Reagent** | Accutase |

## Κύτταρα HCE-T | 305255

| | |
|---|---|
| **Subculturing** | Αφαιρέστε το παλιό μέσο από τα προσκολλημένα κύτταρα και πλύντε τα με PBS που δεν περιέχει ασβέστιο και μαγνήσιο. Για φιάλες T25, χρησιμοποιήστε 3-5 ml PBS και για φιάλες T75, χρησιμοποιήστε 5-10 ml. Στη συνέχεια, καλύψτε πλήρως τα κύτταρα με Accutase, χρησιμοποιώντας 1-2 ml για φιάλες T25 και 2,5 ml για φιάλες T75. Αφήστε τα κύτταρα να επωαστούν σε θερμοκρασία δωματίου για 8-10 λεπτά για να αποκολληθούν. Μετά την επώαση, αναμείξτε απαλά τα κύτταρα με 10 ml μέσου για να ανασυσταθούν και, στη συνέχεια, φυγοκεντρίστε στα 300xg για 3 λεπτά. Απορρίψτε το υπερκείμενο υγρό, ανασυστάστε τα κύτταρα σε φρέσκο μέσο και μεταφέρετέ τα σε νέες φιάλες που περιέχουν ήδη φρέσκο μέσο. |
| **Freeze medium** | Ως μέσο κρυοσυντήρησης, χρησιμοποιούμε πλήρες μέσο ανάπτυξης (συμπεριλαμβανομένου του FBS) + 10% DMSO για επαρκή βιωσιμότητα μετά την απόψυξη, ή CM-1 (αριθμός καταλόγου Cytion 800100), το οποίο περιλαμβάνει βελτιστοποιημένα ωσμοπροστατευτικά και μεταβολικούς σταθεροποιητές για την ενίσχυση της ανάκαμψης και τη μείωση του στρες που προκαλείται από την κρυοσυντήρηση. |

**Thawing and Culturing Cells**

1. Επιβεβαιώστε ότι το φιαλίδιο παραμένει βαθιά παγωμένο κατά την παράδοση, καθώς τα κύτταρα αποστέλλονται σε ξηρό πάγο για να διατηρούνται οι βέλτιστες θερμοκρασίες κατά τη μεταφορά.

2. Κατά την παραλαβή, είτε αποθηκεύστε το κρυοφιαλίδιο αμέσως σε θερμοκρασίες κάτω των -150°C για να διασφαλίσετε τη διατήρηση της κυτταρικής ακεραιότητας, είτε προχωρήστε στο βήμα 3 εάν απαιτείται άμεση καλλιέργεια.

3. Για άμεση καλλιέργεια, αποψύξτε γρήγορα το φιαλίδιο βυθίζοντάς το σε υδατόλουτρο 37°C με καθαρό νερό και αντιμικροβιακό παράγοντα, αναδεύοντας απαλά για 40-60 δευτερόλεπτα μέχρι να παραμείνει ένα μικρό σβόλο πάγου.

4. Εκτελέστε όλα τα επόμενα βήματα υπό αποστειρωμένες συνθήκες σε απορροφητήρα ροής, απολυμαίνοντας το κρυοφιαλίδιο με 70% αιθανόλη πριν από το άνοιγμα.

5. Ανοίξτε προσεκτικά το απολυμασμένο φιαλίδιο και μεταφέρετε το εναιώρημα των κυττάρων σε ένα σωληνάριο φυγοκέντρησης των 15 ml που περιέχει 8 ml θρεπτικού μέσου καλλιέργειας σε θερμοκρασία δωματίου, αναμειγνύοντας απαλά.

6. Φυγοκεντρίστε το μείγμα στα 300 x g για 3 λεπτά για να διαχωριστούν τα κύτταρα και απορρίψτε προσεκτικά το υπερκείμενο που περιέχει το υπόλοιπο μέσο κατάψυξης.

7. Επανασυσσωματώστε απαλά το κυτταρικό σφαιρίδιο σε 10 ml φρέσκου μέσου καλλιέργειας. Για προσκολλημένα κύτταρα, μοιράστε το εναιώρημα σε δύο φιάλες καλλιέργειας T25- για καλλιέργειες εναιωρήματος, μεταφέρετε όλο το μέσο σε μία φιάλη T25 για να προωθήσετε την αποτελεσματική αλληλεπίδραση και ανάπτυξη των κυττάρων.

8. Τηρείτε τα καθιερωμένα πρωτόκολλα υποκαλλιέργειας για τη συνεχή ανάπτυξη και διατήρηση της κυτταρικής σειράς, εξασφαλίζοντας αξιόπιστα πειραματικά αποτελέσματα.

## Κύτταρα HCE-T | 305255

| | |
|---|---|
| **Incubation Atmosphere** | 37°C, 5%$_{CO2}$, υγροποιημένη ατμόσφαιρα. |
| **Flask Coating** | Για βέλτιστη προσκόλληση και βιωσιμότητα μετά την απόψυξη, συνιστούμε τη χρήση **φιαλών ή πλακών με επικάλυψη κολλαγόνου**. |
| **Freezing Procedure** | Οι κρυοσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των -78 °C καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη. |
| **Shipping Conditions** | Οι κρυοσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των -78 °C καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη. |
| **Storage Conditions** | Για μακροχρόνια συντήρηση, τοποθετήστε τα φιαλίδια σε υγρό άζωτο σε φάση ατμών σε θερμοκρασία περίπου -150 έως -196 °C. Η αποθήκευση στους -80 °C είναι αποδεκτή μόνο ως σύντομο ενδιάμεσο βήμα πριν από τη μεταφορά σε υγρό άζωτο. |

## Ποιοτικός έλεγχος / Γενετικό προφίλ / HLA

| | |
|---|---|
| **Sterility** | Η μόλυνση από μυκόπλασμα αποκλείεται με τη χρήση τόσο των δοκιμασιών που βασίζονται στην PCR όσο και των μεθόδων ανίχνευσης μυκοπλάσματος με βάση τη φωταύγεια.<br><br>Για να διασφαλιστεί ότι δεν υπάρχει μόλυνση από βακτήρια, μύκητες ή ζύμες, οι κυτταροκαλλιέργειες υποβάλλονται σε καθημερινές οπτικές επιθεωρήσεις. |