

## HCE-T rakud | 305255

## Üldine teave

## Description

HCE-T on SV40-ga transformeeritud inimese sarvkesta epiteelirakkude liin, mis on saadud inimese primaarsest sarvkesta epiteelist. Liin loodi nakatamisega rekombinantse SV40–adenoviiruse hübriidvektoriga (Ad–SV40), mis võimaldab SV40 suure T-antigeeni stabiilset ekspressiooni ja pidevat proliferatsiooni. Algse iseloomustamise eesmärk oli luua pidevalt kasvav sarvkesta epiteelirakkude liin, mis ei erita vabasad viirusosakesi.

Kultuuris näitavad HCE-T rakud tüüpilist epiteeli „munakivimorfoloogiat” ja kasvavad adheseeruvate monokihidena. On kirjeldatud epiteeli ultrastruktuurilisi tunnuseid, nagu desmosoomid ja apikaalsed mikrovillid, ning on märgitud, et rakud toodavad sarvkestaga seotud 64 kD keratiini. Sobivates diferentseerumistingimustes (nt õhk-vedeliku piiri kultuur kollageenil) võivad HCE-T-rakud moodustada mitmekihilisi, kihistunud struktuure ja arendada mõõdetavaid barjääriomadusi, mis toetab nende kasutamist silma pinna uuringutes.

HCE-T-rakke kasutatakse laialdaselt sarvkesta epiteeli barjäärifunktsiooni, läbilaskvuse ja ravimvormide mõju, rände/paranemisega seotud protsesside ning rakkude reaktsioonide uurimiseks põletikulistele või ärritavatele stiimulitele. Siiski võivad transpordivalkude ekspressioonimustrid ja diferentseerumismarkerite profiilid erineda loomulikust inimese sarvkestast ja primaarsetest limbaalsetest/sarvkesta epiteelisüsteemidest. Seetõttu sobivad HCE-T-rakud kõige paremini mehhanistilisteks ja võrdlevateks in vitro uuringuteks, samas kui otsest kvantitatiivset ekstrapoleerimist in vivo inimese sarvkesta imendumise või sarvkesta diferentseerumise bioloogia suhtes tuleks teha ettevaatusega.

<b>Organism</b>	Inimene
<b>Tissue</b>	Silm, sarvkest, epiteel
<b>Synonyms</b>	HCET, Inimese sarvkesta epiteelirakud - transformeeritud, HCE, SV40-HCEC

## Omadused

**Age** 49 aastat

**Gender** Naised

**Ethnicity** Jaapani

**Morphology** Epiteel

**Cell type** Epiteelirakk

**Growth properties** Kinnipeetav

## HCE-T rakud | 305255

## Regulatiivsed andmed

<b>Citation</b>	HCE-T (Cytioni katalooginumber 305255)
<b>Biosafety level</b>	1
<b>NCBI_TaxID</b>	9606
<b>CellosaurusAccession</b>	CVCL_1272
<b>GMO Status</b>	GMO-S1: See inimese sarvkesta epiteeli rakuliin (HCE-T) sisaldab SV40 varajase piirkonna konstruktsiooni (RSV-T / pRSV-T vektor), mis võimaldab immortaliseerimist. Insert on stabiilselt integreeritud inimese sarvkesta epiteelirakkudesse. See klassifikatsioon kehtib ainult Saksamaal ja võib mujal erineda.

## Biomolekulaarsed andmed

<b>Viruses</b>	Transformant: plasmiid RSV-T (pRSV-T). See plasmiid on SV40 ori-konstruktsioon, mis sisaldab SV40 varase piirkonna geene ja Rous sarkoomiviiruse pikka terminaalset kordust.
<b>Products</b>	Keratiin (64kD)

## Töötlemine

<b>Culture Medium</b>	DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/L glükoosi, w: 2,5 mM L-glutamiini, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM naatriumpüruvaati, w: 1,2 g/L NaHCO <sub>3</sub> (Cytioni artikli number 820400a)
<b>Supplements</b>	Täiendada söötme 5% FBS, 1% ITS (0,625 mg/ml inimese insuliini, 0,625 mg/ml inimese transferriini, 0,625 mikrogrammi/ml naatriumseleniiti, 0,535 mg/ml linoolphapet, 125 mg/ml BSA) ja 10 ng/ml inimese EGF-i
<b>Dissociation Reagent</b>	Accutase
<b>Subculturing</b>	Eemaldage kleepunud rakkudelt vana söötme ja peske neid PBS-ga, milles puudub kaltsium ja magneesium. T25 kolbide puhul kasutage 3-5 ml PBS-i ja T75 kolbide puhul 5-10 ml. Seejärel katke rakud täielikult Accutase'iga, kasutades 1-2 ml T25 kolbide puhul ja 2,5 ml T75 kolbide puhul. Laske rakkudel inkubeerida 8-10 minutit toatemperatuuril, et need eralduksid. Pärast inkubeerimist segage rakud ettevaatlikult 10 ml söötmega, et neid resuspenseerida, seejärel tsentrifuugige 3 minutit 300xg juures. Visake supernatant ära, suspenseerige rakud uuesti värskes keskkonnas ja viige need uutesse kolvidesse, mis sisaldavad juba värsket keskkonda.
<b>Freeze medium</b>	Krüosäilitusvedelikusena kasutame täielikku kasvukeskkonda (sh FBS) + 10% DMSO, et tagada piisav elujõulisus pärast sulatamist, või CM-1 (Cytioni katalooginumber 800100), mis sisaldab optimeeritud osmoprotektante ja metaboolseid stabilisaatoreid, et parandada taastumist ja vähendada krüostressi.

## HCE-T rakud | 305255

### Thawing and Culturing Cells

1. Veenduge, et vial jääb tarnimisel sügavkülmutatud, sest rakud transporditakse kuiva jääga, et säilitada optimaalne temperatuur transpordi ajal.
2. Pärast kättesaamist säilitage krüoviaal kas kohe temperatuuril alla  $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ , et tagada rakkude terviklikkuse säilimine, või jätkake sammuga 3, kui on vaja koheselt kultiveerida.
3. Kohese kultiveerimise korral sulatage viali kiiresti, kastes selle  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$  veevanni puhta vee ja antimikroobse ainega, segades seda õrnalt 40-60 sekundit, kuni alles jääb väike jääklomp.
4. Tehke kõik järgmised toimingud steriilsetes tingimustes vooluhoodis, desinfitseerides krüoviaal enne avamist 70% etanooliga.
5. Avage desinfitseeritud viali ettevaatlikult ja viige raku suspensioon ettevaatlikult segades 15 ml tsentrifuugitorusse, mis sisaldab 8 ml toatemperatuuril olevat kasvukeskkonda.
6. Rakkude eraldamiseks tsentrifuugige segu  $300 \times g$  juures 3 minutit ja visake ülejäänud külmutusvedelikku sisaldav supernatant ettevaatlikult ära.
7. Resuspendeerige rakupellet ettevaatlikult 10 ml värskes kasvukeskkonnas. Adhereerivate rakkude puhul jagage suspensioon kahe T25 kultuurkolvi vahel; suspensioonikultuuride puhul kandke kogu söötme keskkond ühte T25 kolbi, et soodustada rakkude tõhusat koostoimet ja kasvu.
8. Järgige kehtestatud subkultuuriprotokolle rakuliini jätkuvaks kasvuks ja säilitamiseks, tagades usaldusväärsed katsetulemused.

### Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , niisutatud atmosfäär.

### Flask Coating

Puudub

### Freezing Procedure

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

### Shipping Conditions

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

## HCE-T rakud | 305255

### Storage Conditions

Pikaajaliseks säilitamiseks asetage viaalid aurufaasis vedela lämmastikuga umbes -150 kuni -196 °C juures. Säilitamine temperatuuril -80 °C on vastuvõetav ainult lühikese vaheetapina enne vedela lämmastikuga üleviimist.

## Kvaliteedikontroll / Geneetiline profiil / HLA

### Sterility

Mükoplasmakontaminatsioon on välistatud nii PCR-põhiste analüüside kui ka luminesentsil põhinevate mükoplasma tuvastamise meetodite abil.

Bakteriaalse, seene- või pärmsaaste puudumise tagamiseks kontrollitakse rakukultuure iga päev visuaalselt.