

## HCE-T-solut | 305255

## Yleisiä tietoja

## Description

HCE-T on SV40-transformoitu ihmisen sarveiskalvon epiteelisolulinja, joka on peräisin primaarisesta ihmisen sarveiskalvon epiteelistä. Linja perustettiin infektoimalla soluja rekombinantilla SV40-adenovirus-hybridivektorilla (Ad-SV40), mikä mahdollisti SV40-viruksen suuren T-antigeenin vakaan ilmentymisen ja jatkuvan proliferaation. Alkuperäisen karakterisoinnin tavoitteena oli nimenomaan luoda jatkuvasti kasvava sarveiskalvon epiteelisolulinja, joka ei vapauta vapaita viruspartikkeleita.

Viljelyssä HCE-T-solut osoittavat tyypillistä epiteelin ”kivikadun” morfologiaa ja kasvavat kiinnittyneinä yksikerroksina. Epiteelin ultrastruktuurisista piirteistä, kuten desmosomeista ja apikaalisista mikrovilluksista, on raportoitu, ja solujen on kuvattu tuottavan sarveiskalvoon liittyvää 64 kD:n keratiinia. Sopivissa erilaistumisolosuhteissa (esim. kollageenilla toteutettu ilma-neste-rajapintaviljely) HCE-T-solut voivat muodostaa monikerroksisia, kerrostuneita rakenteita ja kehittää mitattavia esteominaisuuksia, mikä tukee niiden käyttöä silmän pinnan tutkimuksessa.

HCE-T-soluja käytetään laajalti sarveiskalvon epiteelibarrierin toiminnan, läpäisevyyden ja formulaatioiden vaikutusten, migraation/korjautumiseen liittyvien prosessien sekä solujen reaktioiden tulehdus- tai ärsyttäviin ärsykkeisiin tutkimiseen. Kuljettajaproteiinien ilmentymismallit ja erilaistumismarkkeriprofiilit voivat kuitenkin poiketa luonnollisesta ihmisen sarveiskalvosta ja primaarisista limbaalisista/sarveiskalvon epiteelijärjestelmistä. Siksi HCE-T sopii parhaiten mekanistisiin ja vertaileviin in vitro -tutkimuksiin, kun taas suoraa kvantitatiivista yleistystä in vivo -ihmisen sarveiskalvon imeytymiseen tai sarveiskalvon erilaistumisbiologiaan tulisi tehdä varovaisesti.

**Organism** Ihminen

**Tissue** Silmä, sarveiskalvo, epiteeli

**Synonyms** HCET, ihmisen sarveiskalvon epiteelisolut - muunnetut, HCE, SV40-HCEC

## Ominaisuudet

**Age** 49 vuotta

**Gender** Nainen

**Ethnicity** Japanilainen

**Morphology** Epiteeli

**Cell type** Epiteelisolu

**Growth properties** Tarttuva

## HCE-T-solut | 305255

## Säätelytiedot

<b>Citation</b>	HCE-T (Cytionin luettelonumero 305255)
<b>Biosafety level</b>	1
<b>NCBI_TaxID</b>	9606
<b>CellosaurusAccession</b>	CVCL_1272
<b>GMO Status</b>	GMO-S1: Tämä ihmisen sarveiskalvon epiteelisolulinja (HCE-T) sisältää SV40-alkuisen alueen konstruktioita (RSV-T / pRSV-T-vektori), joka mahdollistaa kuolemattomuuden. Insertti on integroitu vakaasti ihmisen sarveiskalvon epiteelisoluihin. Tämä luokitus koskee vain Saksaa, ja se voi poiketa muualla.

## Biomolekyyli tiedot

<b>Viruses</b>	Transformantti: plasmidi RSV-T (pRSV-T). Tämä plasmidi on SV40-ori-rakenne, joka sisältää SV40:n varhaisen alueen geenit ja Rous-sarkoomaviruksen pitkän terminaalisen toiston.
<b>Products</b>	Keratiini (64kD)

## Käsittely

<b>Culture Medium</b>	DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/L glukoosia, w: 2,5 mM L-glutamiinia, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM natriumpyruvaattia, w: 1,2 g/L NaHCO <sub>3</sub> (Cytionin artikkelinumero 820400a)
<b>Supplements</b>	Täydennetään elatusainetta 5 % FBS:llä, 1 % ITS:llä (0,625 mg/ml ihmisen insuliinia, 0,625 mg/ml ihmisen transferriniä, 0,625 mikrogrammaa/ml natriumseleniittiä, 0,535 mg/ml linolihappoa, 125 mg/ml BSA:ta) ja 10 ng/ml ihmisen EGF:ää
<b>Dissociation Reagent</b>	Accutase

**Subculturing** Poista vanha väliaine tarttuneista soluista ja pese ne PBS:llä, josta puuttuu kalsiumia ja magnesiumia. Käytä T25-pulloissa 3-5 ml PBS:ää ja T75-pulloissa 5-10 ml. Peitä sitten solut kokonaan Accutase-valmisteella, käyttäen 1-2 ml T25-pulloissa ja 2,5 ml T75-pulloissa. Anna solujen inkuboitua huoneenlämmössä 8-10 minuuttia solujen irtoamiseksi. Inkuboinnin jälkeen solut sekoitetaan varovasti 10 ml:n väliaineella niiden resuspendoimiseksi ja sentrifugoidaan sitten 300xg:n nopeudella 3 minuutin ajan. Hävitä supernatantti, suspendoi solut uudelleen tuoreessa väliaineessa ja siirrä ne uusiin pulloihin, jotka sisältävät jo tuoretta väliaineita.

## HCE-T-solut | 305255

**Freeze medium**

Kryosäilytysmediana käytämme täydellistä kasvualustaa (mukaan lukien FBS) + 10 % DMSO:ta riittävän sulatuksen jälkeisen elinkelpoisuuden varmistamiseksi tai CM-1:tä (Cytionin luettelonumero 800100), joka sisältää optimoituja osmoprotectantteja ja metabolisia stabilisaattoreita, jotka parantavat elpymistä ja vähentävät kryosäilytyksen aiheuttamaa stressiä.

**Thawing and Culturing Cells**

1. Varmista, että injektiopullo pysyy syväjäädetyttynä toimitettaessa, sillä solut kuljetetaan kuivajäädessä, jotta optimaalinen lämpötila säilyy kuljetuksen aikana.
2. Vastaanotettaessa kryopullo joko säilytetään välittömästi alle -150 °C:n lämpötilassa solujen eheyden säilyttämiseksi tai edetään vaiheeseen 3, jos tarvitaan välitöntä viljelyä.
3. Välitöntä viljelyä varten sulata injektiopullo nopeasti upottamalla se 37 °C:n vesihauteeseen, jossa on puhdasta vettä ja antimikrobista ainetta, ja sekoittamalla sitä varovasti 40-60 sekunnin ajan, kunnes jäädästä on jäljellä pieni jäämöhkäle.
4. Suorita kaikki seuraavat vaiheet steriileissä olosuhteissa virtaushupussa ja desinfioi kryopullo 70-prosenttisellä etanolilla ennen avaamista.
5. Avaa desinfioitu injektiopullo varovasti ja siirrä solususpensio 15 ml:n sentrifugiputkeen, joka sisältää 8 ml huoneenlämpöistä elatusainetta, varovasti sekoittaen.
6. Sentrifugoi seosta 300 x g:n voimakkuudella 3 minuutin ajan solujen erottamiseksi ja hävitä varovasti supernatantti, joka sisältää jäännöspakastusmediumia.
7. Suspendoidaan solupelletti varovasti uudelleen 10 ml:aan tuoretta elatusainetta. Jos solut ovat tarttuvia, jaa suspensio kahden T25-kolvin kesken; jos kyseessä ovat suspensioviljelmät, siirrä kaikki väliaine yhteen T25-kolviin solujen tehokkaan vuorovaikutuksen ja kasvun edistämiseksi.
8. Noudata vakiintuneita aliviljelyprotokollia solulinjan jatkuvan kasvun ja ylläpidon varmistamiseksi ja luotettavien kokeellisten tulosten varmistamiseksi.

**Incubation Atmosphere**

37 °C, 5 %  $\text{CO}_2$ , kostutettu ilmakehä.

**Flask Coating**

Ei mitään

**Freezing Procedure**

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäädessä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

## HCE-T-solut | 305255

### Shipping Conditions

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäissä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

### Storage Conditions

Pitkäaikaissäilytystä varten injektiopullot asetetaan höyryfaasissa olevaan nestemäiseen tyypeen noin -150 - -196 °C:een. Säilytys -80 °C:ssa on hyväksyttävää vain lyhyenä välivaiheena ennen siirtoa nestemäiseen tyypeen.

## Laadunvalvonta / Geneettinen profiili / HLA

### Sterility

Mykoplasmakontaminaatio suljetaan pois sekä PCR-pohjaisilla määrityksillä että luminesenssiin perustuvilla mykoplasman osoitusmenetelmillä.

Bakteeri-, sieni- tai hiivakontaminaation välttämiseksi soluviljelmät tarkastetaan päivittäin silmämääräisesti.