

## Cellules HCE-T | 305255

## Informations générales

## Description

La lignée HCE-T est une lignée cellulaire épithéliale cornéenne humaine transformée par le SV40, dérivée d'un épithélium cornéen humain primaire. Cette lignée a été établie par infection avec un vecteur hybride recombinant SV40-adénovirus (Ad-SV40), permettant l'expression stable de l'antigène T de grande taille du SV40 et une prolifération continue. La caractérisation initiale visait spécifiquement à générer une lignée cellulaire épithéliale cornéenne à croissance continue sans libération de particules virales libres.

En culture, les cellules HCE-T présentent une morphologie épithéliale typique en « pavés » et se développent sous forme de monocouches adhérentes. Des caractéristiques épithéliales ultrastructurales telles que des desmosomes et des microvillosités apicales ont été rapportées, et les cellules ont été décrites comme produisant une kératine de 64 kD associée à la cornée. Dans des conditions de différenciation appropriées (par exemple, culture en interface air-liquide sur du collagène), les cellules HCE-T peuvent former des structures stratifiées multicouches et développer des propriétés de barrière mesurables, ce qui justifie leur utilisation dans la recherche sur la surface oculaire.

Les cellules HCE-T sont largement utilisées pour étudier la fonction de barrière de l'épithélium cornéen, la perméabilité et les effets des formulations, les processus liés à la migration et à la réparation, ainsi que les réponses cellulaires aux stimuli inflammatoires ou irritants. Cependant, les profils d'expression des transporteurs et les profils des marqueurs de différenciation peuvent différer de ceux de la cornée humaine native et des systèmes épithéliaux limbiques/cornéens primaires. Par conséquent, les cellules HCE-T sont particulièrement adaptées aux études *in vitro* mécanistiques et comparatives, tandis que toute extrapolation quantitative directe à l'absorption cornéenne humaine *in vivo* ou à la biologie de la différenciation cornéenne doit être effectuée avec prudence.

**Organism** Humain

**Tissue** Oeil, cornée, épithélium

**Synonyms** HCET, cellules épithéliales cornéennes humaines transformées, HCE, SV40-HCEC

## Caractéristiques

**Age** 49 ans

**Gender** Femme

**Ethnicity** Japonais

**Morphology** Épithéliale

**Cell type** Cellule épithéliale

## Cellules HCE-T | 305255

**Growth properties** Adhérent

## Données réglementaires

**Citation** HCE-T (numéro de catalogue Cytion 305255)

**Biosafety level** 1

**NCBI\_TaxID** 9606

**CellosaurusAccession** CVCL\_1272

**GMO Status** OGM-S1 : Cette lignée de cellules épithéliales cornéennes humaines (HCE-T) contient une construction de la région précoce du SV40 (RSV-T / vecteur pRSV-T), permettant l'immortalisation. L'insert est intégré de manière stable dans les cellules épithéliales cornéennes humaines primaires. Cette classification ne s'applique qu'en Allemagne et peut différer dans d'autres pays.

## Données biomoléculaires

**Viruses** Transformant : plasmide RSV-T (pRSV-T). Ce plasmide est une structure ori du SV40 contenant les gènes de la région précoce du SV40 et la longue répétition terminale du virus du sarcome de Rous.

**Products** Kératine (64kD)

## Manipulation

**Culture Medium** DMEM:Ham's F12 (1:1), w : 3.1 g/L Glucose, w : 2.5 mM L-Glutamine, w : 15 mM HEPES, w : 0.5 mM Sodium pyruvate, w : 1.2 g/L NaHCO3 (numéro d'article Cytion 820400a)

**Supplements** Compléter le milieu avec 5 % de FBS, 1 % d'ITS (0,625 mg/mL d'insuline humaine, 0,625 mg/mL de transferrine humaine, 0,625 microgramme/mL de sélénite de sodium, 0,535 mg/mL d'acide linoléique, 125 mg/mL de BSA) et 10 ng/mL d'EGF humain

**Dissociation Reagent** Accutase

**Cellules HCE-T | 305255**

**Subculturing** Retirer l'ancien milieu des cellules adhérentes et les laver avec du PBS dépourvu de calcium et de magnésium. Pour les flacons T25, utiliser 3-5 ml de PBS, et pour les flacons T75, 5-10 ml. Ensuite, recouvrir complètement les cellules avec Accutase, en utilisant 1 à 2 ml pour les flacons T25 et 2,5 ml pour les flacons T75. Laisser les cellules incuber à température ambiante pendant 8-10 minutes pour les détacher. Après incubation, mélanger délicatement les cellules avec 10 ml de milieu pour les remettre en suspension, puis centrifuger à 300xg pendant 3 minutes. Jeter le surnageant, remettre les cellules en suspension dans du milieu frais et les transférer dans de nouveaux flacons contenant déjà du milieu frais.

**Split ratio** Un rapport de 1:8 est recommandé

**Freeze medium** Comme milieu de cryoconservation, nous utilisons un milieu de croissance complet (comprenant du FBS) + 10 % de DMSO pour une viabilité adéquate après décongélation, ou CM-1 (numéro de catalogue 800100 de Cytion), qui comprend des osmoprotectants et des stabilisateurs métaboliques optimisés pour améliorer la récupération et réduire le stress induit par la cryogénéisation.

**Thawing and Culturing Cells**

1. Confirmer que le flacon est toujours congelé à la livraison, car les cellules sont expédiées sur de la glace sèche pour maintenir des températures optimales pendant le transport.
2. Dès réception, soit conserver immédiatement le cryovial à des températures inférieures à -150°C pour assurer la préservation de l'intégrité cellulaire, soit passer à l'étape 3 si une mise en culture immédiate est nécessaire.
3. Pour une mise en culture immédiate, décongeler rapidement le flacon en l'immergeant dans un bain-marie à 37°C avec de l'eau propre et un agent antimicrobien, en l'agitant doucement pendant 40 à 60 secondes jusqu'à ce qu'il ne reste qu'un petit amas de glace.
4. Effectuer toutes les étapes suivantes dans des conditions stériles sous une hotte à flux, en désinfectant le cryovial avec de l'éthanol à 70 % avant de l'ouvrir.
5. Ouvrir soigneusement le flacon désinfecté et transférer la suspension cellulaire dans un tube à centrifuger de 15 ml contenant 8 ml de milieu de culture à température ambiante, en mélangeant doucement.
6. Centrifuger le mélange à 300 x g pendant 3 minutes pour séparer les cellules et jeter soigneusement le surnageant contenant le milieu de congélation résiduel.
7. Remettre doucement en suspension le culot cellulaire dans 10 ml de milieu de culture frais. Pour les cellules adhérentes, répartir la suspension entre deux flacons de culture T25 ; pour les cultures en suspension, transférer tout le milieu dans un seul flacon T25 afin de favoriser une interaction et une croissance efficaces des cellules.
8. Respecter les protocoles de sous-culture établis pour une croissance et un entretien continus de la lignée cellulaire, garantissant ainsi des résultats expérimentaux fiables.

## Cellules HCE-T | 305255

**Incubation Atmosphere** 37°C, 5%<sub>CO2</sub>, atmosphère humidifiée.

**Flask Coating** Aucun

**Freezing Procedure** Les lignées cellulaires cryoconservées sont expédiées sur glace sèche dans des emballages isolés et validés, avec suffisamment de réfrigérant pour maintenir une température d'environ -78 °C tout au long du transport. À la réception, inspecter immédiatement le conteneur et transférer sans délai les flacons dans un lieu de stockage approprié.

**Shipping Conditions** Les lignées cellulaires cryoconservées sont expédiées sur glace sèche dans des emballages isolés et validés, avec suffisamment de réfrigérant pour maintenir une température d'environ -78 °C tout au long du transport. À la réception, inspecter immédiatement le conteneur et transférer sans délai les flacons dans un lieu de stockage approprié.

**Storage Conditions** Pour une conservation à long terme, placer les flacons dans de l'azote liquide en phase vapeur à une température comprise entre -150 et -196 °C environ. Le stockage à -80 °C n'est acceptable qu'en tant qu'étape intermédiaire de courte durée avant le transfert dans l'azote liquide.

## Contrôle de qualité / Profil génétique / HLA

**Sterility** La contamination par les mycoplasmes est exclue à l'aide de tests basés sur la PCR et de méthodes de détection des mycoplasmes basées sur la luminescence.

Pour s'assurer de l'absence de contamination bactérienne, fongique ou levurienne, les cultures cellulaires font l'objet d'inspections visuelles quotidiennes.