

Sel HCE-T | 305255

Informasi umum

Description

HCE-T adalah garis sel epitel kornea manusia yang ditransformasi oleh SV40, yang berasal dari epitel kornea manusia primer. Garis sel ini dibentuk melalui infeksi dengan vektor hibrida rekombinan SV40–adenovirus (Ad–SV40), yang memungkinkan ekspresi stabil antigen T besar SV40 dan proliferasi berkelanjutan. Karakterisasi awal secara khusus bertujuan untuk menghasilkan garis sel epitel kornea yang terus tumbuh tanpa melepaskan partikel virus bebas.

Dalam kultur, sel HCE-T menunjukkan morfologi epitel “batu bata” yang khas dan tumbuh sebagai monolayer yang melekat. Ciri-ciri epitel ultrastruktural seperti desmosom dan mikrovili apikal telah dilaporkan, dan sel-sel ini telah dijelaskan sebagai produsen keratin 64 kD yang terkait dengan kornea. Di bawah kondisi diferensiasi yang sesuai (misalnya, kultur antarmuka udara-cairan pada kolagen), sel HCE-T dapat membentuk struktur berlapis-lapis dan mengembangkan sifat penghalang yang dapat diukur, mendukung penggunaannya dalam penelitian permukaan mata.

Sel HCE-T secara luas digunakan untuk mempelajari fungsi penghalang epitel kornea, permeabilitas, dan efek formulasi, proses migrasi/perbaikan, serta respons seluler terhadap rangsangan inflamasi atau iritan. Namun, pola ekspresi transporter dan profil penanda diferensiasi dapat berbeda dari kornea manusia asli dan dari sistem epitel limbus/kornea primer. Oleh karena itu, HCE-T paling cocok untuk studi mekanistik dan komparatif in vitro, sementara ekstrapolasi kuantitatif langsung ke penyerapan kornea manusia in vivo atau biologi diferensiasi kornea harus dilakukan dengan hati-hati.

Organism Manusia

Tissue Mata, kornea, epitel

Synonyms HCET, Sel Epitel Kornea Manusia yang Diubah, HCE, SV40-HCEC

Karakteristik

Age 49 tahun

Gender Perempuan

Ethnicity Bahasa Jepang

Morphology Epitel

Cell type Sel epitel

Growth properties Patuh

Sel HCE-T | 305255

Data Peraturan

Citation	HCE-T (Nomor katalog Cytion 305255)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_1272
GMO Status	GMO-S1: Garis sel epitel kornea manusia (HCE-T) ini mengandung konstruk wilayah awal SV40 (vektor RSV-T / pRSV-T), yang memungkinkan pengabdian. Sisipan ini terintegrasi secara stabil ke dalam sel epitel kornea manusia primer. Klasifikasi ini hanya berlaku di Jerman dan mungkin berbeda di tempat lain.

Data Biomolekuler

Viruses	Transforman: plasmid RSV-T (pRSV-T). Plasmid ini adalah konstruksi ori SV40 yang mengandung gen wilayah awal SV40 dan pengulangan terminal panjang virus sarkoma Rous.
Products	Keratin (64kD)

Penanganan

Culture Medium	DMEM: Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/L Glukosa, w: 2,5 mM L-Glutamin, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM Natrium piruvat, w: 1,2 g/L NaHCO ₃ (Nomor artikel Cytion 820400a)
Supplements	Lengkapi media dengan 5% FBS, 1% ITS (0,625 mg / mL insulin manusia, 0,625 mg / mL transferin manusia, 0,625 mikrogram / mL natrium selenit, 0,535 mg / mL asam linoleat, 125 mg / mL BSA) dan 10 ng / mL EGF manusia
Dissociation Reagent	Accutase

Subculturing Buang media lama dari sel yang melekat dan cuci dengan PBS yang tidak mengandung kalsium dan magnesium. Untuk labu T25, gunakan 3-5 ml PBS, dan untuk labu T75, gunakan 5-10 ml. Kemudian, tutupi sel sepenuhnya dengan Accutase, menggunakan 1-2 ml untuk labu T25 dan 2,5 ml untuk labu T75. Biarkan sel diinkubasi pada suhu kamar selama 8-10 menit untuk melepaskannya. Setelah inkubasi, campurkan sel secara perlahan dengan 10 ml medium untuk meresuspensi sel, kemudian sentrifugasi pada 300xg selama 3 menit. Buang supernatan, resuspensi sel dalam medium segar, dan pindahkan ke dalam labu baru yang sudah berisi medium segar.

Sel HCE-T | 305255

Freeze medium

Sebagai media kriopreservasi, kami menggunakan media pertumbuhan lengkap (termasuk FBS) + 10% DMSO untuk viabilitas pasca-pencairan yang memadai, atau CM-1 (nomor katalog Cytion 800100), yang mencakup osmoprotektan yang dioptimalkan dan penstabil metabolisme untuk meningkatkan pemulihan dan mengurangi stres yang diinduksi kriopreservasi.

Thawing and Culturing Cells

1. Pastikan botol tetap dalam keadaan beku pada saat pengiriman, karena sel dikirim dengan es kering untuk mempertahankan suhu optimal selama perjalanan.
2. Setelah diterima, segera simpan cryovial pada suhu di bawah -150°C untuk memastikan pelestarian integritas sel, atau lanjutkan ke langkah 3 jika kultur segera diperlukan.
3. Untuk kultur segera, segera cairkan botol dengan merendamnya dalam penangas air bersuhu 37°C dengan air bersih dan agen antimikroba, aduk perlahan selama 40-60 detik hingga gumpalan es kecil tetap ada.
4. Lakukan semua langkah selanjutnya dalam kondisi steril di dalam tudung alir, desinfektan kriovial dengan etanol 70% sebelum dibuka.
5. Buka botol yang telah didesinfeksi dengan hati-hati dan pindahkan suspensi sel ke dalam tabung sentrifugasi 15 ml yang berisi 8 ml media kultur suhu kamar, aduk perlahan.
6. Sentrifus campuran pada $300 \times g$ selama 3 menit untuk memisahkan sel dan dengan hati-hati membuang supernatan yang mengandung sisa media pembekuan.
7. Resuspensi pelet sel dengan hati-hati dalam 10 ml medium kultur segar. Untuk sel yang melekat, bagi suspensi di antara dua labu kultur T25; untuk kultur suspensi, pindahkan semua media ke dalam satu labu T25 untuk mendorong interaksi dan pertumbuhan sel yang efektif.
8. Patuhi protokol subkultur yang telah ditetapkan untuk pertumbuhan dan pemeliharaan garis sel yang berkelanjutan, memastikan hasil eksperimental yang andal.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , atmosfer yang dilembapkan.

Flask Coating

Tidak ada

Freezing Procedure

Lini sel kriopreservasi dikirim di atas es kering dalam kemasan terisolasi yang divalidasi dengan refrigeran yang cukup untuk mempertahankan suhu sekitar -78°C selama perjalanan. Setelah diterima, segera periksa wadah dan pindahkan botol tanpa penundaan ke tempat penyimpanan yang sesuai.

Sel HCE-T | 305255

**Shipping
Conditions**

Lini sel kriopreservasi dikirim di atas es kering dalam kemasan terisolasi yang divalidasi dengan refrigeran yang cukup untuk mempertahankan suhu sekitar -78°C selama perjalanan. Setelah diterima, segera periksa wadah dan pindahkan botol tanpa penundaan ke tempat penyimpanan yang sesuai.

**Storage
Conditions**

Untuk pengawetan jangka panjang, tempatkan botol dalam nitrogen cair fase uap pada suhu sekitar -150 hingga -196°C . Penyimpanan pada suhu -80°C hanya dapat diterima sebagai langkah sementara sebelum dipindahkan ke nitrogen cair.

Kontrol kualitas / Profil genetik / HLA

Sterility

Kontaminasi mikoplasma disingkirkan dengan menggunakan tes berbasis PCR dan metode deteksi mikoplasma berbasis pendaran.

Untuk memastikan tidak ada kontaminasi bakteri, jamur, atau ragi, kultur sel menjalani inspeksi visual setiap hari.