

## Cellule HCE-T | 305255

## Informazioni generali

## Description

HCE-T è una linea cellulare epiteliale corneale umana trasformata con SV40, derivata dall'epitelio corneale umano primario. La linea è stata ottenuta mediante infezione con un vettore ibrido ricombinante SV40-adenovirus (Ad-SV40), che consente l'espressione stabile dell'antigene T grande dell'SV40 e la proliferazione continua. La caratterizzazione iniziale mirava specificamente a generare una linea cellulare epiteliale corneale in crescita continua senza rilascio di particelle virali libere.

In coltura, le cellule HCE-T mostrano la tipica morfologia epiteliale a "ciottoli" e crescono come monostrati aderenti. Sono state segnalate caratteristiche epiteliali ultrastrutturali quali desmosomi e microvilli apicali, e le cellule sono state descritte come produttrici di una cheratina da 64 kD associata alla cornea. In condizioni di differenziazione adeguate (ad es. coltura a interfaccia aria-liquido su collagene), le cellule HCE-T possono formare strutture stratificate a più strati e sviluppare proprietà di barriera misurabili, a sostegno del loro impiego nella ricerca sulla superficie oculare.

Le cellule HCE-T sono ampiamente utilizzate per studiare la funzione di barriera dell'epitelio corneale, la permeabilità e gli effetti delle formulazioni, i processi legati alla migrazione e alla riparazione, nonché le risposte cellulari a stimoli infiammatori o irritanti. Tuttavia, i modelli di espressione dei trasportatori e i profili dei marcatori di differenziazione possono differire dalla cornea umana nativa e dai sistemi epiteliali limbici/corneali primari. Pertanto, le cellule HCE-T sono più adatte per studi in vitro meccanicistici e comparativi, mentre l'estrapolazione quantitativa diretta all'assorbimento corneale umano in vivo o alla biologia della differenziazione corneale dovrebbe essere effettuata con cautela.

**Organism** Umano

**Tissue** Occhio, cornea, epitelio

**Synonyms** HCET, cellule epiteliali corneali umane trasformate, HCE, SV40-HCEC

## Caratteristiche

**Age** 49 anni

**Gender** Donna

**Ethnicity** Giapponese

**Morphology** Epiteliale

**Cell type** Cellula epiteliale

**Growth properties** Aderente

## Cellule HCE-T | 305255

## Dati normativi

<b>Citation</b>	HCE-T (numero di catalogo Cytion 305255)
<b>Biosafety level</b>	1
<b>NCBI_TaxID</b>	9606
<b>CellosaurusAccession</b>	CVCL_1272
<b>GMO Status</b>	GMO-S1: Questa linea cellulare epiteliale corneale umana (HCE-T) contiene un costrutto della regione precoce di SV40 (vettore RSV-T / pRSV-T), che consente l'immortalizzazione. L'inserito è integrato in modo stabile in cellule epiteliali corneali umane primarie. Questa classificazione si applica solo in Germania e può variare altrove.

## Dati biomolecolari

<b>Viruses</b>	Trasformante: plasmide RSV-T (pRSV-T). Questo plasmide è un ori-costrutto SV40 contenente i geni della regione precoce SV40 e la ripetizione terminale lunga del virus del sarcoma di Rous.
<b>Products</b>	Cheratina (64kD)

## Manipolazione

<b>Culture Medium</b>	DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/L di glucosio, w: 2,5 mM di L-Glutamina, w: 15 mM di HEPES, w: 0,5 mM di Sodio piruvato, w: 1,2 g/L di NaHCO <sub>3</sub> (articolo Cytion numero 820400a)
<b>Supplements</b>	Integrare il terreno con 5% FBS, 1% ITS (0,625 mg/mL di insulina umana, 0,625 mg/mL di transferrina umana, 0,625 microgrammi/mL di selenito di sodio, 0,535 mg/mL di acido linoleico, 125 mg/mL di BSA) e 10 ng/mL di EGF umano
<b>Dissociation Reagent</b>	Accutase
<b>Subculturing</b>	Rimuovere il vecchio terreno dalle cellule aderenti e lavarle con PBS privo di calcio e magnesio. Per le fiasche T25, utilizzare 3-5 ml di PBS e per le fiasche T75, 5-10 ml. Quindi, coprire completamente le cellule con Accutase, utilizzando 1-2 ml per le fiasche T25 e 2,5 ml per le fiasche T75. Lasciare incubare le cellule a temperatura ambiente per 8-10 minuti per staccarle. Dopo l'incubazione, mescolare delicatamente le cellule con 10 ml di terreno per risospenderle, quindi centrifugare a 300xg per 3 minuti. Scartare il surnatante, risospendere le cellule in terreno fresco e trasferirle in nuove fiasche contenenti terreno fresco.
<b>Split ratio</b>	Si raccomanda un rapporto di 1:8

## Cellule HCE-T | 305255

### Freeze medium

Come terreno di crioconservazione, utilizziamo un terreno di crescita completo (incluso FBS) + 10% DMSO per un'adeguata vitalità post-scongelo, o CM-1 (numero di catalogo Cytion 800100), che include osmoprotettori e stabilizzatori metabolici ottimizzati per migliorare il recupero e ridurre lo stress crio-indotto.

### Thawing and Culturing Cells

1. Verificare che la fiala rimanga profondamente congelata al momento della consegna, poiché le cellule vengono spedite con ghiaccio secco per mantenere le temperature ottimali durante il trasporto.
2. Al ricevimento, conservare immediatamente la criovial a temperature inferiori a -150°C per garantire la conservazione dell'integrità cellulare, oppure procedere al punto 3 se è necessaria una coltura immediata.
3. Per la coltura immediata, scongelare rapidamente la fiala immergendola in un bagno d'acqua a 37°C con acqua pulita e un agente antimicrobico, agitando delicatamente per 40-60 secondi finché non rimane un piccolo grumo di ghiaccio.
4. Eseguire tutte le fasi successive in condizioni di sterilità in una cappa a flusso, disinfettando la criovial con etanolo al 70% prima dell'apertura.
5. Aprire con cautela la fiala disinfettata e trasferire la sospensione cellulare in una provetta da centrifuga da 15 ml contenente 8 ml di terreno di coltura a temperatura ambiente, mescolando delicatamente.
6. Centrifugare la miscela a 300 x g per 3 minuti per separare le cellule e scartare con cura il surnatante contenente il terreno di coltura residuo.
7. Risospendere delicatamente il pellet cellulare in 10 ml di terreno di coltura fresco. Per le cellule aderenti, dividere la sospensione tra due fiasche di coltura T25; per le colture in sospensione, trasferire tutto il terreno in una fiasca T25 per promuovere l'interazione e la crescita delle cellule.
8. Attenersi ai protocolli di subcoltura stabiliti per la crescita e il mantenimento continui della linea cellulare, garantendo risultati sperimentali affidabili.

### Incubation Atmosphere

37°C, 5%<sub>CO2</sub>, atmosfera umidificata.

### Flask Coating

Nessuno

### Freezing Procedure

Le linee cellulari crioconservate vengono spedite su ghiaccio secco in confezioni isolate e convalidate, con una quantità di refrigerante sufficiente a mantenere circa -78 °C durante il trasporto. Al ricevimento, ispezionare immediatamente il contenitore e trasferire immediatamente le fiale in un luogo di conservazione appropriato.

## Cellule HCE-T | 305255

### Shipping Conditions

Le linee cellulari crioconservate vengono spedite su ghiaccio secco in confezioni isolate e convalidate, con una quantità di refrigerante sufficiente a mantenere circa -78 °C durante il trasporto. Al ricevimento, ispezionare immediatamente il contenitore e trasferire immediatamente le fiale in un luogo di conservazione appropriato.

### Storage Conditions

Per la conservazione a lungo termine, porre le fiale in azoto liquido in fase vapore a una temperatura compresa tra -150 e -196 °C circa. La conservazione a -80 °C è accettabile solo come breve fase intermedia prima del trasferimento in azoto liquido.

## Controllo di qualità / Profilo genetico / HLA

### Sterility

La contaminazione da micoplasma viene esclusa utilizzando sia saggi basati sulla PCR sia metodi di rilevamento del micoplasma basati sulla luminescenza.

Per garantire l'assenza di contaminazione batterica, fungina o da lieviti, le colture cellulari sono sottoposte a ispezioni visive quotidiane.