

HCE-T-cellen | 305255

Algemene informatie

Description

HCE-T is een door SV40 getransformeerde menselijke hoornvliesepitheelcellijn die is afgeleid van primair menselijk hoornvliesepitheel. De lijn is tot stand gebracht door infectie met een recombinant SV40-adenovirus-hybridevector (Ad-SV40), waardoor stabiele expressie van het grote T-antigeen van SV40 en continue proliferatie mogelijk werden. De oorspronkelijke karakterisering was specifiek gericht op het genereren van een continu groeiende hoornvliesepitheelcellijn zonder dat er vrije virale deeltjes vrijkomen.

In kweek vertonen HCE-T-cellen de typische epitheliale 'kasseien'-morfologie en groeien ze als hechtende monolaagjes. Er zijn ultrastructurele epitheliale kenmerken zoals desmosomen en apicale microvilli gerapporteerd, en er is beschreven dat de cellen een hoornvlies-geassocieerd 64 kD-keratine produceren. Onder geschikte differentiatieomstandigheden (bijv. lucht-vloeistof-grensvlakcultuur op collageen) kunnen HCE-T-cellen meerlaagse, gelaagde structuren vormen en meetbare barrière-eigenschappen ontwikkelen, wat hun gebruik in onderzoek naar het oogoppervlak ondersteunt.

HCE-T-cellen worden op grote schaal gebruikt voor het bestuderen van de barrièrefunctie van het hoornvliesepitheel, permeabiliteit en effecten van formuleringen, migratie- en herstelgerelateerde processen, en cellulaire reacties op inflammatoire of irriterende prikkels. De expressiepatronen van transporters en de profielen van differentiatie markers kunnen echter verschillen van die van het natuurlijke menselijke hoornvlies en van primaire limbus-/hoornvliesepitheelsystemen. Daarom is HCE-T het meest geschikt voor mechanistische en vergelijkende in-vitro-studies, terwijl directe kwantitatieve extrapolatie naar in-vivo-absorptie door het menselijk hoornvlies of de biologie van hoornvliesdifferentiatie met de nodige voorzichtigheid moet worden uitgevoerd.

Organism

Mens

Tissue

Oog, hoornvlies, epitheel

Synonyms

HCET, menselijke hoornvliesepitheelcellen - getransformeerd, HCE, SV40-HCEC

Kenmerken

Age

49 jaar

Gender

Vrouw

Ethnicity

Japans

Morphology

Epitheel

Cell type

Epitheelcel

Growth properties

Aanhangend

HCE-T-cellen | 305255

Regelgevende gegevens

Citation	HCE-T (Cytion catalogusnummer 305255)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_1272
GMO Status	GMO-S1: Deze menselijke cornea-epitheelcellijn (HCE-T) bevat een SV40 early-region construct (RSV-T / pRSV-T vector), dat immortalisatie mogelijk maakt. Het insert is stabiel geïntegreerd in primaire humane cornea-epitheelcellen. Deze classificatie is alleen van toepassing binnen Duitsland en kan elders afwijken.

Biomoleculaire gegevens

Viruses	Transformant: plasmide RSV-T (pRSV-T). Dit plasmide is een SV40 ori-construct dat de SV40 early region genen en de Rous sarcoma virus long terminal repeat bevat.
Products	Keratine (64kD)

Omgaan met

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 Natriumpyruvaat, w: 1,2 g/L NaHCO ₃ (Cytion artikelnummer 820400a)
Supplements	Vul het medium aan met 5% FBS, 1% ITS (0,625 mg/mL menselijke insuline, 0,625 mg/mL menselijke transferrine, 0,625 microgram/mL natriumseleniet, 0,535 mg/mL linolzuur, 125 mg/mL BSA) en 10 ng/mL menselijk EGF
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Verwijder het oude medium van de adherente cellen en was ze met PBS zonder calcium en magnesium. Gebruik voor T25-flesjes 3-5 ml PBS en voor T75-flesjes 5-10 ml. Bedek de cellen vervolgens volledig met Accutase, met 1-2 ml voor T25-flesjes en 2,5 ml voor T75-flesjes. Laat de cellen gedurende 8-10 minuten bij kamertemperatuur incuberen om ze los te maken. Na incubatie de cellen voorzichtig mengen met 10 ml medium om ze te resuspenden en vervolgens centrifugereren bij 300xg gedurende 3 minuten. Gooi het supernatant weg, resuspendeer de cellen in vers medium en breng ze over in nieuwe kolven die al vers medium bevatten.
Split ratio	Een verhouding van 1:8 wordt aanbevolen

HCE-T-cellen | 305255

Freeze medium

Als cryoconserveringsmedium gebruiken we volledig groeimeidium (inclusief FBS) + 10% DMSO voor voldoende levensvatbaarheid na het ontdooien, of CM-1 (Cytion catalogusnummer 800100), dat geoptimaliseerde osmoprotectanten en metabolische stabilisatoren bevat om het herstel te verbeteren en door cryo geïnduceerde stress te verminderen.

Thawing and Culturing Cells

1. Controleer of de flacon bij levering diepgevroren blijft, aangezien de cellen op droog ijs worden verzonden om optimale temperaturen tijdens het transport te behouden.
2. Bewaar het cryoflesje na ontvangst onmiddellijk bij temperaturen lager dan $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ om de integriteit van de cellen te behouden, of ga verder met stap 3 als onmiddellijke kweek vereist is.
3. Voor onmiddellijke kweek: ontdooi de flacon snel door deze onder te dompelen in een waterbad van $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ met schoon water en een antimicrobieel middel, waarbij u 40-60 seconden zachtjes schudt totdat er een klein ijsklontje overblijft.
4. Voer alle volgende stappen uit onder steriele omstandigheden in een stromingskap en desinfecteer de cryoflacon met 70% ethanol voordat deze wordt geopend.
5. Open voorzichtig de gedesinfecteerde flacon en breng de celsuspensie over in een centrifugebuis van 15 ml met 8 ml kweekmedium op kamertemperatuur en meng voorzichtig.
6. Centrifugeer het mengsel gedurende 3 minuten bij $300 \times g$ om de cellen te scheiden en gooi het supernatant met resterend vriesmedium voorzichtig weg.
7. Resuspendeer de celpellet voorzichtig in 10 ml vers kweekmedium. Verdeel voor adherente cellen de suspensie over twee T25-kweekkolven; breng voor suspensiekweken al het medium over in één T25-kweekkolf om effectieve celinteractie en -groei te bevorderen.
8. Houd u aan de vastgestelde subcultuurprotocollen voor continue groei en onderhoud van de cellijn, om betrouwbare experimentele resultaten te garanderen.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , bevochtigde atmosfeer.

Flask Coating

Geen

Freezing Procedure

Gecryopreserveerde cellijnen worden verzonden op droog ijs in gevalideerde, geïsoleerde verpakkingen met voldoende koelmiddel om gedurende het transport ongeveer $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ te handhaven. Inspecteer de verpakking onmiddellijk na ontvangst en breng de flacons onverwijld over naar de juiste opslagplaats.

HCE-T-cellen | 305255

Shipping Conditions

Gecryopreserveerde cellijnen worden verzonden op droog ijs in gevalideerde, geïsoleerde verpakkingen met voldoende koelmiddel om gedurende het transport ongeveer -78 °C te handhaven. Inspecteer de verpakking onmiddellijk na ontvangst en breng de flacons onverwijld over naar de juiste opslagplaats.

Storage Conditions

Voor langdurige bewaring plaatst u flesjes in vloeibare stikstof in dampfase bij ongeveer -150 tot -196 °C. Opslag bij -80 °C is alleen aanvaardbaar als korte tussenstap vóór overbrenging naar vloeibare stikstof.

Kwaliteitscontrole / Genetisch profiel / HLA

Sterility

Mycoplasma-verontreiniging wordt uitgesloten met zowel PCR-gebaseerde testen als op luminescentie gebaseerde mycoplasma-detectiemethoden.

Om er zeker van te zijn dat er geen besmetting is met bacteriën, schimmels of gisten, worden de celculturen dagelijks onderworpen aan visuele inspecties.