

## HCE-T-celler | 305255

## Generell informasjon

## Description

HCE-T er en SV40-transformert human hornhinneepitelcellelinje avledet fra primært humant hornhinneepitel. Linjen ble etablert ved infeksjon med en rekombinant SV40–adenovirus-hybridvektor (Ad–SV40), noe som muliggjør stabil ekspresjon av SV40-stort T-antigen og kontinuerlig proliferasjon. Den opprinnelige karakteriseringen hadde spesifikt som mål å generere en kontinuerlig voksende hornhinneepitelcellelinje uten utsondring av frie viruspartikler.

I kultur viser HCE-T-celler typisk epitelial «brosteinsmorfologi» og vokser som vedheftende monolag. Ultrastrukturelle epitelegenskaper som desmosomer og apikale mikrovilli er rapportert, og cellene er beskrevet som produsenter av et hornhinneassosiert 64 kD keratin. Under egnede differensieringsbetingelser (f.eks. luft–væske–grensesnittkultur på kollagen) kan HCE-T-celler danne flerlags, stratifiserte strukturer og utvikle målbare barriereegenskaper, noe som støtter deres bruk i forskning på øyets overflate.

HCE-T-celler brukes mye til å studere hornhinneepitelets barrierefunksjon, permeabilitet og formuleringseffekter, migrasjons-/reparasjonsrelaterte prosesser og cellulære responser på inflammatoriske eller irriterende stimuli. Imidlertid kan transportøruttrykkmønstre og differensieringsmarkørprofiler avvike fra naturlig menneskelig hornhinne og fra primære limbal-/hornhinneepitel-systemer. Derfor er HCE-T best egnet for mekanistiske og komparative in vitro-studier, mens direkte kvantitativ ekstrapolering til in vivo-absorpsjon i menneskelig hornhinne eller hornhinnedifferensieringsbiologi bør utføres med forsiktighet.

## Organism

Menneskelig

## Tissue

Øye, hornhinne, epitel

## Synonyms

HCET, humane hornhinneepitelceller - transformerte, HCE, SV40-HCEC

## Kjennetegn

## Age

49 år

## Gender

Kvinne

## Ethnicity

Japansk

## Morphology

Epitelial

## Cell type

Epitelcelle

## Growth properties

Vedhengende

## Regulatoriske data

## HCE-T-celler | 305255

<b>Citation</b>	HCE-T (Cytion-katalognummer 305255)
<b>Biosafety level</b>	1
<b>NCBI_TaxID</b>	9606
<b>CellosaurusAccession</b>	CVCL_1272
<b>GMO Status</b>	GMO-S1: Denne humane hornhinneepitelcellelinjen (HCE-T) inneholder en SV40-konstruksjon med tidlig SV40-region (RSV-T/pRSV-T-vektor), noe som muliggjør udødeliggjøring. Innsatsen er stabilt integrert i primære humane hornhinneepitelceller. Denne klassifiseringen gjelder bare i Tyskland og kan avvike andre steder.

## Biomolekylære data

<b>Viruses</b>	Transformant: plasmid RSV-T (pRSV-T). Dette plasmidet er en SV40-ori-konstruksjon som inneholder SV40-gener fra den tidlige regionen og Rous sarkomvirusets lange terminale repetisjon.
<b>Products</b>	Keratin (64 kD)

## Håndtering

<b>Culture Medium</b>	DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/L glukose, w: 2,5 mM L-glutamin, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM natriumpyruvat, w: 1,2 g/L NaHCO <sub>3</sub> (Cytion artikkelnummer 820400a)
<b>Supplements</b>	Tilsett 5 % FBS, 1 % ITS (0,625 mg/mL humant insulin, 0,625 mg/mL humant transferrin, 0,625 mikrogram/mL natriumselenitt, 0,535 mg/mL linolsyre, 125 mg/mL BSA) og 10 ng/mL humant EGF
<b>Dissociation Reagent</b>	Accutase
<b>Subculturing</b>	Fjern det gamle mediet fra de adherente cellene, og vask dem med PBS uten kalsium og magnesium. Bruk 3-5 ml PBS for T25-kolber og 5-10 ml for T75-kolber. Dekk deretter cellene helt med Accutase, med 1-2 ml for T25-kolber og 2,5 ml for T75-kolber. La cellene inkubere i romtemperatur i 8-10 minutter for å løsne dem. Etter inkubasjon blandes cellene forsiktig med 10 ml medium for å resuspendere dem, og sentrifuger deretter ved 300xg i 3 minutter. Kast supernatanten, resuspendere cellene i nytt medium, og overfør dem til nye kolber som allerede inneholder nytt medium.
<b>Split ratio</b>	Et forhold på 1:8 anbefales
<b>Freeze medium</b>	Som kryopreserveringsmedium bruker vi komplett vekstmedium (inkludert FBS) + 10 % DMSO for tilstrekkelig levedyktighet etter opptining, eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som inneholder optimaliserte osmobeskyttende midler og metabolske stabilisatorer for å øke utvinningen og redusere kryoundusert stress.

## HCE-T-celler | 305255

### Thawing and Culturing Cells

1. Kontroller at hetteglasset er dypfrysnet ved levering, ettersom cellene sendes på tørris for å opprettholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved mottak skal hetteglasset enten oppbevares umiddelbart ved temperaturer under  $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$  for å sikre at cellenes integritet bevares, eller gå videre til trinn 3 hvis umiddelbar dyrking er nødvendig.
3. Ved umiddelbar dyrking tiner du hetteglasset raskt ved å senke det ned i et  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$  varmt vannbad med rent vann og et antimikrobielt middel, og røre forsiktig i 40-60 sekunder til det blir en liten isklump igjen.
4. Utfør alle påfølgende trinn under sterile forhold i en strømningshette, og desinfiser kryoflasken med 70 % etanol før du åpner den.
5. Åpne det desinfiserte hetteglasset forsiktig, og overfør cellesuspensjonen til et 15 ml sentrifugerør som inneholder 8 ml romtemperert dyrkningsmedium, og bland forsiktig.
6. Sentrifuger blandingen ved  $300 \times g$  i 3 minutter for å separere cellene, og kast supernatanten som inneholder rester av frysemedium, forsiktig.
7. Resuspender cellepelletten forsiktig i 10 ml nytt dyrkningsmedium. For adherente celler, del suspensjonen mellom to T25-kulturkolber; for suspensjonskulturer, overfør alt mediet til én T25-kolbe for å fremme effektiv celleinteraksjon og vekst.
8. Følg etablerte subkulturprotokoller for fortsatt vekst og vedlikehold av cellelinjen, noe som sikrer pålitelige eksperimentelle resultater.

### Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$ , 5 %  $\text{CO}_2$ , befuktet atmosfære.

### Flask Coating

Ingen

### Freezing Procedure

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca.  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$  under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

### Shipping Conditions

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca.  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$  under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

## HCE-T-celler | 305255

### Storage Conditions

For langtidsoppbevaring plasseres hetteglassene i flytende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Lagring ved -80 °C er kun akseptabelt som et kort mellomtrinn før overføring til flytende nitrogen.

## Kvalitetskontroll / Genetisk profil / HLA

### Sterility

Mykoplasma-kontaminering utelukkes ved hjelp av både PCR-baserte analyser og luminescensbaserte metoder for påvisning av mykoplasma.

For å sikre at det ikke finnes bakterie-, sopp- eller gjærkontaminering, blir cellekulturene inspisert visuelt hver dag.