

Células HCE-T | 305255

Informações gerais

Description

A HCE-T é uma linha celular de epitélio corneano humano transformada pelo SV40, derivada do epitélio corneano humano primário. A linha foi estabelecida através da infecção com um vetor híbrido recombinante de SV40-adenovírus (Ad-SV40), permitindo a expressão estável do antígeno T grande do SV40 e a proliferação contínua. A caracterização original visava especificamente gerar uma linha celular de epitélio corneano em crescimento contínuo, sem liberação de partículas virais livres.

Em cultura, as células HCE-T apresentam a morfologia epitelial típica em «pavimento de calçada» e crescem como monocamadas aderentes. Foram relatadas características epiteliais ultraestruturais, tais como desmossomas e microvilosidades apicais, e as células foram descritas como produtoras de uma queratina de 64 kD associada à córnea. Em condições de diferenciação adequadas (por exemplo, cultura em interface ar-líquido sobre colagénio), as células HCE-T podem formar estruturas estratificadas em múltiplas camadas e desenvolver propriedades de barreira mensuráveis, o que sustenta a sua utilização na investigação da superfície ocular.

As células HCE-T são amplamente utilizadas para estudar a função de barreira do epitélio da córnea, a permeabilidade e os efeitos da formulação, os processos relacionados com a migração/reparação e as respostas celulares a estímulos inflamatórios ou irritantes. No entanto, os padrões de expressão dos transportadores e os perfis dos marcadores de diferenciação podem diferir da córnea humana nativa e dos sistemas epiteliais limbares/corneais primários. Por conseguinte, as HCE-T são mais adequadas para estudos in vitro mecanísticos e comparativos, devendo a extrapolação quantitativa direta para a absorção da córnea humana in vivo ou para a biologia da diferenciação da córnea ser realizada com cautela.

Organism Humano

Tissue Olho, córnea, epitélio

Synonyms HCET, células epiteliais da córnea humana transformadas, HCE, SV40-HCEC

Caraterísticas

Age 49 anos

Gender Feminino

Ethnicity Japonês

Morphology Epitelial

Cell type Célula epitelial

Growth properties Aderente

Células HCE-T | 305255**Dados regulamentares**

Citation	HCE-T (número de catálogo Cytion 305255)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_1272
GMO Status	GMO-S1: Esta linha de células epiteliais da córnea humana (HCE-T) contém uma construção da região precoce do SV40 (vetor RSV-T / pRSV-T), que permite a imortalização. A inserção é integrada de forma estável em células epiteliais primárias da córnea humana. Esta classificação aplica-se apenas na Alemanha e pode ser diferente noutros países.

Dados biomoleculares

Víruses	Transformante: plasmídeo RSV-T (pRSV-T). Este plasmídeo é uma oriconstrução SV40 que contém os genes da região inicial do SV40 e a repetição terminal longa do vírus do sarcoma de Rous.
Products	Queratina (64kD)

Manuseamento

Culture Medium	DMEM:Ham's F12 (1:1), com: 3,1 g/L de glucose, com: 2,5 mM de L-Glutamina, com: 15 mM de HEPES, com: 0,5 mM de piruvato de sódio, com: 1,2 g/L de NaHCO ₃ (número de artigo Cytion 820400a)
Supplements	Suplementar o meio com 5% de FBS, 1% de ITS (0,625 mg/mL de insulina humana, 0,625 mg/mL de transferrina humana, 0,625 microgramas/mL de selenito de sódio, 0,535 mg/mL de ácido linoleico, 125 mg/mL de BSA) e 10 ng/mL de EGF humano
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Retirar o meio antigo das células aderentes e lavá-las com PBS sem cálcio e magnésio. Nos frascos T25, utilizar 3-5 ml de PBS e, nos frascos T75, 5-10 ml. Em seguida, cobrir completamente as células com Accutase, utilizando 1-2 ml para os frascos T25 e 2,5 ml para os frascos T75. Deixar as células incubar à temperatura ambiente durante 8-10 minutos para as destacar. Após a incubação, misturar suavemente as células com 10 ml de meio para as ressuspender e, em seguida, centrifugar a 300xg durante 3 minutos. Deitar fora o sobrenadante, ressuspender as células em meio fresco e transferi-las para novos frascos que já contenham meio fresco.
Split ratio	Recomenda-se um rácio de 1:8

Células HCE-T | 305255

Freeze medium

Como meio de criopreservação, utilizamos um meio de crescimento completo (incluindo FBS) + 10% DMSO para uma viabilidade pós-descongelamento adequada, ou CM-1 (número de catálogo Cytion 800100), que inclui osmoprotectores otimizados e estabilizadores metabólicos para melhorar a recuperação e reduzir o stress induzido pela crio.

Thawing and Culturing Cells

1. Confirme que o frasco permanece profundamente congelado aquando da entrega, uma vez que as células são enviadas em gelo seco para manter as temperaturas ideais durante o transporte.
2. Após a receção, armazenar o frasco criogénico imediatamente a temperaturas inferiores a -150°C para garantir a preservação da integridade celular, ou avançar para o passo 3 se for necessária uma cultura imediata.
3. Para uma cultura imediata, descongelar rapidamente o frasco imergindo-o num banho de água a 37°C com água limpa e um agente antimicrobiano, agitando suavemente durante 40-60 segundos até ficar um pequeno aglomerado de gelo.
4. Efetuar todos os passos subsequentes em condições estéreis numa capela de fluxo, desinfetando o frasco criogénico com etanol a 70% antes de o abrir.
5. Abrir cuidadosamente o frasco desinfetado e transferir a suspensão de células para um tubo de centrifugação de 15 ml contendo 8 ml de meio de cultura à temperatura ambiente, misturando suavemente.
6. Centrifugar a mistura a 300 x g durante 3 minutos para separar as células e eliminar cuidadosamente o sobrenadante que contém o meio de congelação residual.
7. Ressuspender suavemente o pellet de células em 10 ml de meio de cultura fresco. No caso de células aderentes, dividir a suspensão entre dois frascos de cultura T25; no caso de culturas em suspensão, transferir todo o meio para um frasco T25 para promover uma interação e um crescimento eficazes das células.
8. Cumprir os protocolos de subcultura estabelecidos para o crescimento e manutenção contínuos da linha celular, garantindo resultados experimentais fiáveis.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO_2 , atmosfera humidificada.

Flask Coating

Nenhum

Células HCE-T | 305255

Freezing Procedure

As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente -78 °C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

Shipping Conditions

As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente -78 °C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

Storage Conditions

Para conservação a longo prazo, colocar os frascos em azoto líquido em fase de vapor a uma temperatura entre -150 e -196 °C. O armazenamento a -80 °C é aceitável apenas como um curto passo intermédio antes da transferência para azoto líquido.

Controlo de qualidade / Perfil genético / HLA

Sterility

A contaminação por micoplasma é excluída utilizando ensaios baseados em PCR e métodos de deteção de micoplasma baseados em luminescência.

Para garantir que não há contaminação bacteriana, fúngica ou de leveduras, as culturas de células são sujeitas a inspeções visuais diárias.