

Celule HCE-T | 305255

Informații generale

Description

HCE-T este o linie celulară epitelială corneană umană transformată cu SV40, derivată din epiteliul cornean uman primar. Linia a fost creată prin infectare cu un vector hibrid recombinant SV40–adenovirus (Ad–SV40), care permite exprimarea stabilă a antigenului T mare al SV40 și proliferarea continuă. Caracterizarea inițială a avut ca scop specific generarea unei linii celulare epiteliale corneene cu creștere continuă, fără eliberarea de particule virale libere.

În cultură, celulele HCE-T prezintă morfologia tipică „pavaj” a epitelului și cresc sub formă de monostraturi aderente. Au fost raportate caracteristici epiteliale ultrastructurale, cum ar fi desmozomii și microvili apicali, iar celulele au fost descrise ca producând o keratină de 64 kD asociată corneei. În condiții de diferențiere adecvate (de exemplu, cultura la interfața aer-lichid pe colagen), celulele HCE-T pot forma structuri stratificate multistratificate și pot dezvolta proprietăți de barieră măsurabile, susținând utilizarea lor în cercetarea suprafeței oculare.

Celulele HCE-T sunt utilizate pe scară largă pentru a studia funcția de barieră a epitelului cornean, permeabilitatea și efectele formulării, procesele legate de migrare/reparare și răspunsurile celulare la stimuli inflamatori sau iritanți. Cu toate acestea, modelele de expresie ale transportorilor și profilurile markerilor de diferențiere pot diferi de corneea umană nativă și de sistemele epiteliale limbale/corneene primare. Prin urmare, HCE-T este cel mai potrivit pentru studii mecaniciste și comparative in vitro, în timp ce extrapolarea cantitativă directă la absorbția corneană umană in vivo sau la biologia diferențierii corneene trebuie efectuată cu precauție.

Organism Om

Tissue Ochi, cornee, epiteliu

Synonyms HCET, celule epiteliale corneene umane-Transformate, HCE, SV40-HCEC

Caracteristici

Age 49 de ani

Gender Femei

Ethnicity Japoneză

Morphology Epitelial

Cell type Celulă epitelială

Growth properties Aderent

Celule HCE-T | 305255

Date de reglementare

Citation	HCE-T (număr de catalog Cytion 305255)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_1272
GMO Status	OMG-S1: Această linie de celule epiteliale corneene umane (HCE-T) conține o construcție de regiune timpurie SV40 (vector RSV-T / pRSV-T), care permite imortalizarea. Inserția este integrată stabil în celulele epiteliale corneene umane primare. Această clasificare se aplică numai în Germania și poate diferi în alte părți.

Date biomoleculare

Viruses	Transformant: plasmidă RSV-T (pRSV-T). Această plasmidă este o structură ori SV40 care conține genele regiunii timpurii SV40 și repetiția terminală lungă a virusului sarcomului Rous.
Products	Keratină (64kD)

Manipulare

Culture Medium	DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/L Glucoză, w: 2,5 mM L-Glutamină, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM Piruvat de sodiu, w: 1,2 g/L NaHCO ₃ (număr articol Cytion 820400a)
Supplements	Suplimentați mediul cu 5% FBS, 1% ITS (0,625 mg/mL insulină umană, 0,625 mg/mL transferină umană, 0,625 microgram/mL selenit de sodiu, 0,535 mg/mL acid linoleic, 125 mg/mL BSA) și 10 ng/mL EGF uman
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Îndepărtați mediul vechi de pe celulele aderente și spălați-le cu PBS care nu conține calciu și magneziu. Pentru flacoanele T25, se utilizează 3-5 ml de PBS, iar pentru flacoanele T75, 5-10 ml. Apoi, se acoperă celulele complet cu Accutase, folosind 1-2 ml pentru flacoanele T25 și 2,5 ml pentru flacoanele T75. Lăsați celulele la incubare la temperatura camerei timp de 8-10 minute pentru a le detașa. După incubare, amestecați ușor celulele cu 10 ml de mediu pentru a le resuspenda, apoi centrifugați la 300xg timp de 3 minute. Aruncați supernatantul, resuspendați celulele în mediu proaspăt și transferați-le în flacoane noi care conțin deja mediu proaspăt.
Freeze medium	Ca mediu de crioconservare, folosim mediu de creștere complet (inclusiv FBS) + 10% DMSO pentru o viabilitate adecvată după dezghețare sau CM-1 (număr de catalog Cytion 800100), care include osmoprotectanți optimizați și stabilizatori metabolici pentru a spori recuperarea și a reduce stresul indus de criogenie.

Celule HCE-T | 305255**Thawing and
Culturing Cells**

1. Confirmați că flaconul rămâne profund înghețat la livrare, deoarece celulele sunt expediate pe gheață carbonică pentru a menține temperaturi optime în timpul transportului.
2. La primire, fie depozitați crioviola imediat la temperaturi sub -150 °C pentru a asigura păstrarea integrității celulare, fie treceți la etapa 3 dacă este necesară cultivarea imediată.
3. Pentru cultivarea imediată, dezghețați rapid flaconul prin scufundarea acestuia într-o baie de apă la 37 °C cu apă curată și un agent antimicrobian, agitându-l ușor timp de 40-60 de secunde până când rămâne o mică aglomerare de gheață.
4. Se efectuează toate etapele ulterioare în condiții sterile, într-o hotă cu flux, dezinfectând crioviola cu etanol 70% înainte de deschidere.
5. Se deschide cu grijă flaconul dezinfectat și se transferă suspensia celulară într-un tub de centrifugare de 15 ml care conține 8 ml de mediu de cultură la temperatura camerei, amestecând ușor.
6. Se centrifughează amestecul la 300 x g timp de 3 minute pentru a separa celulele și se aruncă cu grijă supernatantul care conține mediul de congelare rezidual.
7. Se resuspendă ușor peletul celular în 10 ml de mediu de cultură proaspăt. Pentru celulele aderente, împărțiți suspensia între două flacoane de cultură T25; pentru culturile în suspensie, transferați tot mediul într-un flacon T25 pentru a promova interacțiunea și creșterea celulară eficientă.
8. Respectați protocoalele de subcultură stabilite pentru creșterea și menținerea continuă a liniei celulare, asigurând rezultate experimentale fiabile.

**Incubation
Atmosphere**

37°C, 5% CO_2 , atmosferă umidificată.

Flask Coating

Niciuna

**Freezing
Procedure**

Liniile celulare crioconservate sunt expediate pe gheață carbonică în ambalaje izolate, validate, cu suficient agent frigorific pentru a menține aproximativ -78 °C pe toată durata transportului. La primire, se inspectează imediat recipientul și se transferă fără întârziere fiolele în depozitul corespunzător.

**Shipping
Conditions**

Liniile celulare crioconservate sunt expediate pe gheață carbonică în ambalaje izolate, validate, cu suficient agent frigorific pentru a menține aproximativ -78 °C pe toată durata transportului. La primire, se inspectează imediat recipientul și se transferă fără întârziere fiolele în depozitul corespunzător.

Celule HCE-T | 305255

Storage Conditions

Pentru conservarea pe termen lung, flacoanele se plasează în azot lichid în fază de vapori la o temperatură cuprinsă între -150 și -196 °C. Păstrarea la -80 °C este acceptabilă doar ca o scurtă etapă intermediară înainte de transferul în azot lichid.

Controlul calității / Profil genetic / HLA

Sterility

Contaminarea cu micoplasmă este exclusă utilizând atât teste bazate pe PCR, cât și metode de detectare a micoplasmei bazate pe luminescență.

Pentru a se asigura că nu există contaminare bacteriană, fungică sau de drojdie, culturile celulare sunt supuse unor inspecții vizuale zilnice.