

HCE-T-celler | 305255

Allmän information

Description

HCE-T är en SV40-transformerad human hornhinneepitelcellinje som härrör från primärt humant hornhinneepitel. Linjen etablerades genom infektion med en rekombinant SV40–adenovirus-hybridvektor (Ad–SV40), vilket möjliggör stabilt uttryck av SV40:s stora T-antigen och kontinuerlig proliferation. Den ursprungliga karakteriseringen syftade specifikt till att skapa en kontinuerligt växande hornhinneepitelcellinje utan utsöndring av fria viruspartiklar.

I odling uppvisar HCE-T-celler typisk epitelial ”kullerstensmorfologi” och växer som vidhäftande monolager. Ultrastrukturella epitelegenskaper såsom desmosomer och apikala mikrovilli har rapporterats, och cellerna har beskrivits som producenter av ett hornhinneassocierat 64 kD-keratin. Under lämpliga differentieringsförhållanden (t.ex. luft–vätske-gränssnittskultur på kollagen) kan HCE-T-celler bilda flerskiktade, stratifierade strukturer och utveckla mätbara barriäregenskaper, vilket stödjer deras användning inom forskning om ögats yta.

HCE-T-celler används i stor utsträckning för att studera hornhinnans epitelbarriärfunktion, permeabilitet och formuleringseffekter, migrations-/reparationsrelaterade processer samt cellulära reaktioner på inflammatoriska eller irriterande stimuli. Transportörernas uttrycksmönster och differentieringsmarkörprofilerna kan dock skilja sig från den naturliga mänskliga hornhinnan och från primära limbal-/hornhinneepitel-system. Därför är HCE-T bäst lämpad för mekanistiska och jämförande in vitro-studier, medan direkt kvantitativ extrapolering till in vivo-absorption i mänsklig hornhinna eller hornhinnans differentieringsbiologi bör utföras med försiktighet.

Organism

Människan

Tissue

Öga, hornhinna, epitel

Synonyms

HCET, Transformerade hornhinneepitelceller från människa, HCE, SV40-HCEC

Egenskaper

Age

49 år

Gender

Kvinna

Ethnicity

Japanska

Morphology

Epitelial

Cell type

Epitelial cell

Growth properties

Följsam

HCE-T-celler | 305255

Lagstadgade uppgifter

Citation	HCE-T (Cytion katalognummer 305255)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_1272
GMO Status	GMO-S1: Denna mänskliga hornhinneepitelcellinje (HCE-T) innehåller en SV40-konstruktion med tidig region (RSV-T/pRSV-T-vektor), vilket möjliggör immortalisering. Insatsen är stabilt integrerad i primära humana hornhinneepitelceller. Denna klassificering gäller endast inom Tyskland och kan skilja sig åt på andra håll.

Biomolekylära data

Viruses	Transformant: plasmid RSV-T (pRSV-T). Denna plasmid är en SV40 ori-konstruktion som innehåller SV40 early region-gener och Rous sarcoma virus long terminal repeat.
Products	Keratin (64 kD)

Hantering

Culture Medium	DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/L Glukos, w: 2,5 mM L-Glutamin, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM Natriumpyruvat, w: 1,2 g/L NaHCO ₃ (Cytion artikelnummer 820400a)
Supplements	Komplettera med 5% FBS, 1% ITS (0,625 mg/mL humant insulin, 0,625 mg/mL humant transferrin, 0,625 mikrogram/mL natriumselenit, 0,535 mg/mL linolsyra, 125 mg/mL BSA) och 10 ng/mL humant EGF
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Ta bort det gamla mediet från de adherenta cellerna och tvätta dem med PBS som saknar kalcium och magnesium. Använd 3-5 ml PBS för T25-kolvar och 5-10 ml för T75-kolvar. Täck sedan cellerna helt med Accutase, använd 1-2 ml för T25-kolvar och 2,5 ml för T75-kolvar. Låt cellerna inkubera i rumstemperatur i 8-10 minuter så att de lossnar. Efter inkubationen, blanda cellerna försiktigt med 10 ml medium för att resuspendera dem och centrifugera sedan vid 300xg i 3 minuter. Kassera supernatanten, resuspendera cellerna i färskt medium och överför dem till nya kolvar som redan innehåller färskt medium.
Split ratio	Ett förhållande på 1:8 rekommenderas

HCE-T-celler | 305255

Freeze medium

Som kryokonserveringsmedium använder vi komplett tillväxtmedium (inklusive FBS) + 10% DMSO för adekvat viabilitet efter upptining, eller CM-1 (Cytion katalognummer 800100), som innehåller optimerade osmoprotektanter och metaboliska stabilisatorer för att förbättra återhämtningen och minska kryoinducerad stress.

Thawing and Culturing Cells

1. Bekräfta att flaskan är djupfryst vid leverans, eftersom cellerna skickas på torris för att bibehålla optimala temperaturer under transporten.
2. Vid mottagandet ska du antingen förvara kryovialen omedelbart vid temperaturer under $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ för att säkerställa att cellernas integritet bevaras, eller gå vidare till steg 3 om omedelbar odling krävs.
3. Vid omedelbar odling ska injektionsflaskan snabbt tinas genom att den sänks ned i ett $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ vattenbad med rent vatten och ett antimikrobiellt medel och omrörs försiktigt i 40-60 sekunder tills en liten isklump återstår.
4. Utför alla efterföljande steg under sterila förhållanden i en flödeshuv och desinficera kryovialerna med 70 % etanol innan de öppnas.
5. Öppna försiktigt den desinficerade flaskan och överför cellsuspensionen till ett 15 ml centrifugrör som innehåller 8 ml rumstempererat odlingsmedium och blanda försiktigt.
6. Centrifugera blandningen vid $300 \times g$ i 3 minuter för att separera cellerna och kassera försiktigt supernatanten som innehåller resterande frysmedium.
7. Resuspendera försiktigt cellpelleten i 10 ml färskt odlingsmedium. För adherenta celler, fördela suspensionen mellan två T25-kulturkanter; för suspensionskulturer, överför allt medium till en T25-kolv för att främja effektiv cellinteraktion och tillväxt.
8. Följ fastställda subkulturprotokoll för fortsatt tillväxt och underhåll av cellinjen, vilket säkerställer tillförlitliga experimentella resultat.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , befuktad atmosfär.

Flask Coating

Ingen

Freezing Procedure

Kryopreserverade cellinjer skickas på torris i validerade, isolerade förpackningar med tillräckligt med kylmedel för att hålla cirka $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hela transporten. Vid mottagandet ska behållaren omedelbart inspekteras och flaskorna utan dröjsmål överföras till lämplig förvaring.

HCE-T-celler | 305255

Shipping Conditions

Kryopreserverade cellinjer skickas på torris i validerade, isolerade förpackningar med tillräckligt med kylmedel för att hålla cirka -78 °C under hela transporten. Vid mottagandet ska behållaren omedelbart inspekteras och flaskorna utan dröjsmål överförs till lämplig förvaring.

Storage Conditions

För långtidsförvaring, placera flaskorna i flytande kväve i ångfas vid ca -150 till -196 °C. Förvaring vid -80 °C är acceptabelt endast som ett kort mellanliggande steg innan överföring till flytande kväve.

Kvalitetskontroll / Genetisk profil / HLA

Sterility

Mykoplasmakontaminering utesluts med hjälp av både PCR-baserade analyser och luminiscensbaserade metoder för mykoplasmadiagnostik.

För att säkerställa att det inte finns någon kontaminering av bakterier, svamp eller jäst utsätts cellkulturerna för dagliga visuella inspektioner.