

## Celice HCE-T | 305255

## Splošne informacije

## Description

HCE-T je linija človeških roženičnih epitelnih celic, transformiranih z virusom SV40, ki izhaja iz primarnega človeškega roženičnega epitelijskega. Linija je bila vzpostavljena z okužbo z rekombinantnim hibridnim vektorjem SV40–adenovirusa (Ad–SV40), kar omogoča stabilno izražanje velikega T-antigena SV40 in neprekinjeno proliferacijo. Prvotna karakterizacija je bila posebej usmerjena v ustvarjanje neprekinjeno rastoče linije roženičnih epitelnih celic brez izločanja prostih virusnih delcev.

V kulturi celice HCE-T kažejo tipično epitelno morfologijo v obliki »tlakovcev« in rastejo kot adhezivne monosloje. Poročali so o ultrastrukturnih epitelnih značilnostih, kot so desmozomi in apikalne mikrovili, celice pa so opisali kot proizvajalke roženice povezanega 64 kD keratina. V ustreznih pogojih diferenciacije (npr. kultura na stiku zrak–tekočina na kolagenu) lahko celice HCE-T tvorijo večplastne, stratificirane strukture in razvijejo merljive lastnosti pregrade, kar podpira njihovo uporabo v raziskavah očesne površine.

Celice HCE-T se pogosto uporabljajo za preučevanje funkcije roženične epitelne pregrade, prepustnosti in učinkov formulacij, procesov, povezanih z migracijo/popraviljanjem, ter celičnih odzivov na vnetne ali dražilne dražljaje. Vendar se vzorci izražanja transporterjev in profili markerjev diferenciacije lahko razlikujejo od naravne človeške roženice in primarnih limbalnih/roženičnih epitelnih sistemov. Zato so HCE-T celice najbolj primerne za mehanistične in primerjalne in vitro študije, medtem ko je treba neposredno kvantitativno ekstrapolacijo na in vivo absorpcijo človeške roženice ali biologijo diferenciacije roženice izvajati z previdnostjo.

**Organism** Človek

**Tissue** Oko, roženica, epitelij

**Synonyms** HCET, Human Corneal Epithelial cells-Transformed, HCE, SV40-HCEC

## Značilnosti

**Age** 49 let

**Gender** Ženske

**Ethnicity** Japonski

**Morphology** Epitelijski

**Cell type** Epitelijska celica

**Growth properties** Pripadajoče

## Regulativni podatki

## Celice HCE-T | 305255

<b>Citation</b>	HCE-T (kataloška številka Cytion 305255)
<b>Biosafety level</b>	1
<b>NCBI_TaxID</b>	9606
<b>CellosaurusAccession</b>	CVCL_1272
<b>GMO Status</b>	GSO-S1: Ta linija človeških epiteljskih celic roženice (HCE-T) vsebuje konstrukt zgodnje regije SV40 (vektor RSV-T / pRSV-T), ki omogoča immortalizacijo. Vstavek je stabilno integriran v primarne človeške epiteljske celice roženice. Ta razvrstitev velja samo v Nemčiji in se lahko drugje razlikuje.

## Biomolekularni podatki

<b>Viruses</b>	Transformant: plazmid RSV-T (pRSV-T). Ta plazmid je ori-konstrukcija SV40, ki vsebuje gene zgodnje regije SV40 in dolgo terminalno ponovitev virusa Rous sarcoma.
<b>Products</b>	Keratin (64kD)

## Ravnanje s spletno stranjo

<b>Culture Medium</b>	DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/L glukoze, w: 2,5 mM L-glutamina, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM natrijevega piruvata, w: 1,2 g/L NaHCO <sub>3</sub> (številka izdelka Cytion 820400a)
<b>Supplements</b>	Gojišče dopolnite s 5 % FBS, 1 % ITS (0,625 mg/ml človeškega insulina, 0,625 mg/ml človeškega transferina, 0,625 mikrograma/ml natrijevega selenita, 0,535 mg/ml linolne kisline, 125 mg/ml BSA) in 10 ng/ml človeškega EGF
<b>Dissociation Reagent</b>	Accutase
<b>Subculturing</b>	Odstranite staro gojišče z adherentnih celic in jih sperite s PBS, ki ne vsebuje kalcija in magnezija. Za bučke T25 uporabite 3-5 ml PBS, za bučke T75 pa 5-10 ml. Nato celice popolnoma prekrijte z Accutase, pri čemer uporabite 1-2 ml za bučke T25 in 2,5 ml za bučke T75. Celice pustite inkubirati pri sobni temperaturi 8-10 minut, da se ločijo. Po inkubaciji celice nežno premešajte z 10 ml gojišča, da se ponovno suspendirajo, nato jih 3 minute centrifugirajte pri 300xg. Zavrzite supernatant, ponovno suspendirajte celice v svežem gojišču in jih prenesite v nove bučke, ki že vsebujejo sveže gojišče.
<b>Freeze medium</b>	Kot gojišče za kriokonzervacijo uporabljamo popolno rastno gojišče (vključno s FBS) + 10 % DMSO za ustrezno vitalnost po odmrznitvi ali CM-1 (kataloška številka 800100 podjetja Cytion), ki vključuje optimizirane osmoprotektante in presnovne stabilizatorje za izboljšanje okrevanja in zmanjšanje stresa, povzročene s kriom.

## Celice HCE-T | 305255

### Thawing and Culturing Cells

1. Prepričajte se, da je viala ob dostavi globoko zamrznjena, saj se celice pošiljajo na suhem ledu, da se med prevozom ohranijo optimalne temperature.
2. Po prejemu krioviala takoj shranite pri temperaturi pod  $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ , da zagotovite ohranitev celične celovitosti, ali pa nadaljujte s korakom 3, če je potrebno takojšnje gojenje.
3. Za takojšnje gojenje vialo hitro odtalite tako, da jo potopite v vodno kopel s čisto vodo in protimikrobnim sredstvom pri  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$  ter 40-60 sekund nežno mešate, dokler ne ostane majhen ledeni kepica.
4. Vse nadaljnje korake izvajajte v sterilnih pogojih v pretočni nape, pred odprtjem pa krioviala razkužite s 70 % etanolom.
5. Previdno odprite razkuženo vialo in celično suspenzijo prenesite v 15-mililitrsko centrifugirno epruveto, ki vsebuje 8 ml gojišča sobne temperature, ter nežno premešajte.
6. Mešanico centrifugirajte pri  $300 \times g$  3 minute, da ločite celice, in previdno zavržite supernatant, ki vsebuje ostanke zamrzovalnega gojišča.
7. Pelet celic nežno ponovno suspendirajte v 10 ml svežega gojišča. Pri adherentnih celicah suspenzijo razdelite med dve bučki T25; pri suspenzijskih kulturah prenesite vse gojišče v eno bučko T25, da spodbudite učinkovito interakcijo in rast celic.
8. Upoštevajte uveljavljene protokole subkultur za nadaljnjo rast in vzdrževanje celične linije ter tako zagotovite zanesljive rezultate poskusov.

### Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$ , 5 %  $\text{CO}_2$ , vlažno ozračje.

### Flask Coating

Nič

### Freezing Procedure

Kriokonzervirane celične linije se pošiljajo na suhem ledu v potrjeni, izolirani embalaži z zadostno količino hladilnega sredstva, da se med prevozom vzdržuje približno  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Ob prejemu takoj preglejte embalažo in vialo nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.

### Shipping Conditions

Kriokonzervirane celične linije se pošiljajo na suhem ledu v potrjeni, izolirani embalaži z zadostno količino hladilnega sredstva, da se med prevozom vzdržuje približno  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Ob prejemu takoj preglejte embalažo in vialo nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.

## Celice HCE-T | 305255

### Storage Conditions

Za dolgotrajno shranjevanje vial postavite v tekoči dušik v parni fazi pri približno -150 do -196 °C. Shranjevanje pri -80 °C je sprejemljivo le kot kratek vmesni korak pred prenosom v tekoči dušik.

## Nadzor kakovosti / Genetski profil / HLA

### Sterility

Kontaminacija z mikoplazmo se izključi z uporabo testov na podlagi PCR in metod za odkrivanje mikoplazme na podlagi luminiscence.

Da se zagotovi, da ni kontaminacije z bakterijami, glivami ali kvasovkami, se celične kulture dnevno vizualno pregledujejo.