

Células HCE-T | 305255

Información general

Description

HCE-T es una línea celular de epitelio corneal humano transformada con SV40, derivada del epitelio corneal humano primario. La línea se estableció mediante infección con un vector híbrido recombinante de SV40 y adenovirus (Ad-SV40), lo que permitió la expresión estable del antígeno T grande del SV40 y la proliferación continua. La caracterización original tenía como objetivo específico generar una línea celular epitelial corneal de crecimiento continuo sin que se liberaran partículas virales libres.

En cultivo, las células HCE-T muestran la morfología epitelial típica en forma de «adoquín» y crecen como monocapas adherentes. Se han descrito características epiteliales ultraestructurales, como desmosomas y microvellosidades apicales, y se ha indicado que las células producen una queratina de 64 kD asociada a la córnea. Bajo condiciones de diferenciación adecuadas (por ejemplo, cultivo en interfaz aire-líquido sobre colágeno), las células HCE-T pueden formar estructuras estratificadas de múltiples capas y desarrollar propiedades de barrera cuantificables, lo que respalda su uso en la investigación de la superficie ocular.

Las células HCE-T se utilizan ampliamente para estudiar la función de barrera del epitelio corneal, la permeabilidad y los efectos de las formulaciones, los procesos relacionados con la migración y la reparación, y las respuestas celulares a estímulos inflamatorios o irritantes. Sin embargo, los patrones de expresión de los transportadores y los perfiles de marcadores de diferenciación pueden diferir de los de la córnea humana nativa y de los sistemas epiteliales limbares y corneales primarios. Por lo tanto, las células HCE-T son más adecuadas para estudios in vitro mecánicos y comparativos, mientras que la extrapolación cuantitativa directa a la absorción corneal humana in vivo o a la biología de la diferenciación corneal debe realizarse con precaución.

Organism

Humano

Tissue

Ojo, córnea, epitelio

Synonyms

HCET, células epiteliales corneales humanas transformadas; HCE, SV40-HCEC

Características

Age

49 años

Gender

Mujer

Ethnicity

Japonés

Morphology

Epithelial

Cell type

Célula epitelial

Growth properties

Adherente

Células HCE-T | 305255**Datos normativos**

| | |
|-----------------------------|---|
| Citation | HCE-T (número de catálogo de Cytion 305255) |
| Biosafety level | 1 |
| NCBI_TaxID | 9606 |
| CellosaurusAccession | CVCL_1272 |
| GMO Status | GMO-S1: Esta línea celular de epitelio corneal humano (HCE-T) contiene un constructo de la región temprana del SV40 (vector RSV-T / pRSV-T), lo que permite su inmortalización. El inserto está integrado de manera estable en células primarias de epitelio corneal humano. Esta clasificación se aplica únicamente en Alemania y puede variar en otros lugares. |

Datos biomoleculares

| | |
|-----------------|--|
| Viruses | Transformante: plásmido RSV-T (pRSV-T). Este plásmido es un constructo basado en el origen de replicación (ori) del SV40 que contiene los genes de la región temprana del SV40 y la repetición terminal larga del virus del sarcoma de Rous. |
| Products | Queratina (64 kD) |

Manejo

| | |
|-----------------------------|--|
| Culture Medium | DMEM:F12 de Ham (1:1), p/v: 3,1 g/L de glucosa, p/v: 2,5 mM de L-glutamina, p/v: 15 mM de HEPES, p: 0,5 mM de piruvato de sodio, p: 1,2 g/L de NaHCO ₃ (número de artículo de Cytion 820400a) |
| Supplements | Añade al medio un 5 % de FBS, un 1 % de ITS (0,625 mg/mL de insulina humana, 0,625 mg/mL de transferrina humana, 0,625 microgramos/mL de selenito de sodio, 0,535 mg/mL de ácido linoleico, 125 mg/mL de BSA) y 10 ng/mL de EGF humano |
| Dissociation Reagent | Accutase |

Subculturing Retira el medio usado de las células adheridas y lávalas con PBS sin calcio ni magnesio. Para los frascos T25, usa de 3 a 5 ml de PBS, y para los frascos T75, usa de 5 a 10 ml. Luego, cubra las células por completo con Accutase, utilizando de 1 a 2 ml para los frascos T25 y 2,5 ml para los frascos T75. Deje que las células se incuben a temperatura ambiente durante 8 a 10 minutos para desprenderse. Después de la incubación, mezcla suavemente las células con 10 ml de medio para resuspenderlas; luego, centrifuga a 300xg durante 3 minutos. Deseche el sobrenadante, resuspenda las células en medio fresco y transfíralas a frascos nuevos que ya contengan medio fresco.

Células HCE-T | 305255

Freeze medium

Como medio de criopreservación, utilizamos un medio de crecimiento completo (que incluye FBS) + 10 % de DMSO para garantizar una viabilidad adecuada tras la descongelación, o CM-1 (número de catálogo de Cytion 800100), que incluye osmoprotectores y estabilizadores metabólicos optimizados para mejorar la recuperación y reducir el estrés inducido por la criopreservación.

Thawing and Culturing Cells

1. Verifique que el vial se mantenga profundamente congelado al momento de la entrega, ya que las células se envían en hielo seco para mantener temperaturas óptimas durante el transporte.
2. Al recibirlo, almacene el criovial inmediatamente a temperaturas inferiores a $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ para garantizar la preservación de la integridad celular, o bien continúe con el paso 3 si se requiere un cultivo inmediato.
3. Para el cultivo inmediato, descongele rápidamente el vial sumergiéndolo en un baño de agua a $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ con agua limpia y un agente antimicrobiano, agitando suavemente durante 40 a 60 segundos hasta que quede un pequeño trozo de hielo.
4. Realice todos los pasos posteriores en condiciones estériles bajo una cabina de flujo laminar, desinfectando el criovial con etanol al 70 % antes de abrirlo.
5. Abra con cuidado el vial desinfectado y transfiera la suspensión celular a un tubo de centrífuga de 15 ml que contenga 8 ml de medio de cultivo a temperatura ambiente, mezclando suavemente.
6. Centrifugue la mezcla a $300 \times g$ durante 3 minutos para separar las células y deseche con cuidado el sobrenadante que contenga medio de congelación residual.
7. Resuspende suavemente el sedimento celular en 10 ml de medio de cultivo fresco. Para las células adherentes, divide la suspensión entre dos frascos de cultivo T25; para los cultivos en suspensión, transfiera todo el medio a un solo frasco T25 para promover una interacción y un crecimiento celular efectivos.
8. Siga los protocolos de subcultivo establecidos para el crecimiento y mantenimiento continuos de la línea celular, asegurando resultados experimentales confiables.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5 % de CO_2 , atmósfera humidificada.

Shipping Conditions

Las líneas celulares criopreservadas se envían en hielo seco, en un embalaje aislante validado que contiene suficiente refrigerante para mantener una temperatura de aproximadamente $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ durante todo el transporte. Al recibir el envío, revise el contenedor de inmediato y traslade los viales sin demora al lugar de almacenamiento adecuado.

Células HCE-T | 305255

Storage Conditions

Para la conservación a largo plazo, coloque los viales en nitrógeno líquido en fase de vapor a una temperatura de entre -150 y -196 °C, aproximadamente. El almacenamiento a -80 °C solo es aceptable como un paso intermedio breve antes de transferirlos al nitrógeno líquido.

Control de calidad y análisis molecular

Sterility

Se descarta la contaminación por micoplasmas mediante ensayos basados en PCR y métodos de detección de micoplasmas basados en luminiscencia.

Para garantizar que no haya contaminación bacteriana, fúngica o por levaduras, los cultivos celulares se someten a inspecciones visuales diarias.