

Cellules HCE-T | 305255

Renseignements généraux

Description

La lignée HCE-T est une lignée cellulaire épithéliale cornéenne humaine transformée par le SV40, dérivée d'un épithélium cornéen humain primaire. Cette lignée a été établie par infection à l'aide d'un vecteur hybride recombinant SV40-adénovirus (Ad-SV40), permettant l'expression stable de l'antigène T de grande taille du SV40 et une prolifération continue. La caractérisation initiale visait spécifiquement à générer une lignée cellulaire épithéliale cornéenne à croissance continue sans libération de particules virales libres.

En culture, les cellules HCE-T présentent une morphologie épithéliale typique en « pavés » et se développent sous forme de monocouches adhérentes. Des caractéristiques épithéliales ultrastructurales, telles que les desmosomes et les microvillosités apicales, ont été rapportées, et il a été établi que ces cellules produisent une kératine de 64 kD associée à la cornée. Dans des conditions de différenciation appropriées (p. ex., culture à l'interface air-liquide sur du collagène), les cellules HCE-T peuvent former des structures stratifiées multicouches et développer des propriétés de barrière mesurables, ce qui justifie leur utilisation dans la recherche sur la surface oculaire.

Les cellules HCE-T sont largement utilisées pour étudier la fonction de barrière de l'épithélium cornéen, la perméabilité et les effets des formulations, les processus liés à la migration et à la réparation, ainsi que les réponses cellulaires aux stimuli inflammatoires ou irritants. Cependant, les profils d'expression des transporteurs et les profils des marqueurs de différenciation peuvent différer de ceux de la cornée humaine native et des systèmes épithéliaux limbaires ou cornéens primaires. Par conséquent, les cellules HCE-T conviennent particulièrement aux études in vitro mécanistiques et comparatives, tandis que toute extrapolation quantitative directe à l'absorption cornéenne humaine in vivo ou à la biologie de la différenciation cornéenne doit être effectuée avec prudence.

Organism Humain

Tissue Œil, cornée, épithélium

Synonyms HCET, cellules épithéliales cornéennes humaines transformées, HCE, SV40-HCEC

Caractéristiques

Age 49 ans

Gender Femme

Ethnicity Japonais

Morphology Épithélial

Cell type Cellule épithéliale

Cellules HCE-T | 305255

Growth properties Adepte

Données réglementaires

Citation HCE-T (numéro de catalogue Cytion 305255)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_1272

GMO Status GMO-S1 : Cette lignée cellulaire épithéliale cornéenne humaine (HCE-T) contient un construct de la région précoce du SV40 (vecteur RSV-T / pRSV-T), permettant son immortalisation. L'insert est intégré de manière stable dans des cellules épithéliales cornéennes humaines primaires. Cette classification ne s'applique qu'en Allemagne et peut varier ailleurs.

Données biomoléculaires

Viruses Transformant : plasmide RSV-T (pRSV-T). Ce plasmide est une construction à base de l'ori du SV40 contenant les gènes de la région précoce du SV40 et la longue répétition terminale du virus du sarcome de Rous.

Products Kératine (64 kD)

Manipulation

Culture Medium DMEM : F12 de Ham (1:1), p/v : 3,1 g/L de glucose, p/v : 2,5 mM de L-glutamine, p/v : 15 mM d'HEPES, 0,5 mM de pyruvate de sodium, 1,2 g/L de NaHCO₃ (référence Cytion 820400a)

Supplements Ajouter au milieu 5 % de FBS, 1 % d'ITS (0,625 mg/mL d'insuline humaine, 0,625 mg/mL de transferrine humaine, 0,625 microgramme/mL de sélénite de sodium, 0,535 mg/mL d'acide linoléique, 125 mg/mL de BSA) et 10 ng/mL d'EGF humain

Dissociation Reagent Accutase

Cellules HCE-T | 305255

Subculturing

Retirez l'ancien milieu des cellules adhérentes et lavez-les avec du PBS sans calcium ni magnésium. Pour les flacons T25, utilisez 3 à 5 ml de PBS, et pour les flacons T75, utilisez 5 à 10 ml. Ensuite, recouvrez complètement les cellules d'Accutase, en utilisant 1 à 2 ml pour les flacons T25 et 2,5 ml pour les flacons T75. Laissez les cellules incuber à température ambiante pendant 8 à 10 minutes afin de les détacher. Après l'incubation, mélangez délicatement les cellules avec 10 ml de milieu pour les remettre en suspension, puis centrifugez à 300 x g pendant 3 minutes. Éliminez le surnageant, remettez les cellules en suspension dans du milieu frais, puis transférez-les dans de nouveaux flacons contenant déjà du milieu frais.

Freeze medium

Comme milieu de cryoconservation, nous utilisons un milieu de croissance complet (contenant du sérum foetal bovin) + 10 % de DMSO pour assurer une viabilité adéquate après décongélation, ou du CM-1 (référence Cytion 800100), qui contient des osmoprotecteurs et des stabilisateurs métaboliques optimisés pour améliorer la récupération et réduire le stress induit par la cryoconservation.

Thawing and Culturing Cells

1. Assurez-vous que le flacon reste bien congelé à la livraison, car les cellules sont expédiées sur de la glace sèche afin de maintenir des températures optimales pendant le transport.
2. À la réception, conservez immédiatement le cryofiole à une température inférieure à -150 °C pour garantir la préservation de l'intégrité cellulaire, ou passez à l'étape 3 si une culture immédiate est nécessaire.
3. Pour une culture immédiate, décongelez rapidement le flacon en l'immergeant dans un bain-marie à 37 °C contenant de l'eau propre et un agent antimicrobien, en agitant doucement pendant 40 à 60 secondes jusqu'à ce qu'il ne reste qu'un petit morceau de glace.
4. Effectuez toutes les étapes suivantes dans des conditions stériles sous une hotte à flux laminaire, en désinfectant le cryotube avec de l'éthanol à 70 % avant de l'ouvrir.
5. Ouvrez avec précaution le flacon désinfecté et transférez la suspension cellulaire dans un tube à centrifuger de 15 ml contenant 8 ml de milieu de culture à température ambiante, en mélangeant délicatement.
6. Centrifuger le mélange à 300 x g pendant 3 minutes pour séparer les cellules, puis jeter avec précaution le surnageant contenant le milieu de congélation résiduel.
7. Remettre délicatement le culot cellulaire en suspension dans 10 ml de milieu de culture frais. Pour les cellules adhérentes, répartir la suspension dans deux flacons de culture T25; pour les cultures en suspension, transférer la totalité du milieu dans un seul flacon T25 afin de favoriser une interaction et une croissance cellulaires efficaces.
8. Respectez les protocoles de sous-culture établis pour assurer la croissance continue et le maintien de la lignée cellulaire, garantissant ainsi des résultats expérimentaux fiables.

Cellules HCE-T | 305255

Incubation Atmosphere

37 °C, 5 % de CO₂, atmosphère humidifiée.

Shipping Conditions

Les lignées cellulaires cryoconservées sont expédiées dans de la glace sèche, dans un emballage isotherme validé contenant suffisamment de réfrigérant pour maintenir une température d'environ -78 °C pendant tout le transport. À la réception, inspectez immédiatement le conteneur et transférez sans délai les flacons dans un lieu de stockage approprié.

Storage Conditions

Pour une conservation à long terme, placez les flacons dans de l'azote liquide en phase vapeur à une température comprise entre environ -150 et -196 °C. L'entreposage à -80 °C n'est acceptable qu'à titre d'étape intermédiaire de courte durée avant le transfert dans l'azote liquide.

Contrôle de la qualité et analyse moléculaire

Sterility

La contamination par les mycoplasmes est exclue à l'aide de tests basés sur la PCR et de méthodes de détection des mycoplasmes par luminescence.

Afin de s'assurer qu'il n'y a aucune contamination bactérienne, fongique ou par des levures, les cultures cellulaires font l'objet d'inspections visuelles quotidiennes.