

**Células HCE-T | 305255****Informações gerais****Description**

A HCE-T é uma linhagem celular epitelial da córnea humana transformada pelo SV40, derivada do epitélio corneano humano primário. A linhagem foi estabelecida por meio da infecção com um vetor híbrido recombinante de SV40 e adenovírus (Ad-SV40), o que possibilitou a expressão estável do antígeno T grande do SV40 e a proliferação contínua. A caracterização original visava especificamente gerar uma linhagem de células epiteliais da córnea em crescimento contínuo, sem liberação de partículas virais livres.

Em cultura, as células HCE-T apresentam a morfologia epitelial típica em “pavimento de pedras” e crescem como monocamadas aderentes. Foram relatadas características epiteliais ultraestruturais, como desmossomos e microvilosidades apicais, e as células foram descritas como produtoras de uma queratina de 64 kD associada à córnea. Sob condições adequadas de diferenciação (por exemplo, cultura na interface ar-líquido sobre colágeno), as células HCE-T podem formar estruturas estratificadas em múltiplas camadas e desenvolver propriedades de barreira mensuráveis, o que justifica seu uso em pesquisas sobre a superfície ocular.

As células HCE-T são amplamente utilizadas para estudar a função de barreira do epitélio corneano, a permeabilidade e os efeitos de formulações, processos relacionados à migração/reparação e respostas celulares a estímulos inflamatórios ou irritantes. No entanto, os padrões de expressão de transportadores e os perfis de marcadores de diferenciação podem diferir da córnea humana nativa e dos sistemas epiteliais limbares/corneanos primários. Portanto, as células HCE-T são mais adequadas para estudos *in vitro* mecânicos e comparativos, enquanto a extrapolação quantitativa direta para a absorção da córnea humana *in vivo* ou para a biologia da diferenciação da córnea deve ser realizada com cautela.

**Organism**

Humano

**Tissue**

Olho, córnea, epitélio

**Synonyms**

HCET, Células epiteliais da córnea humana transformadas, HCE, SV40-HCEC

**Características****Age**

49 anos

**Gender**

Mulher

**Ethnicity**

Japonês

**Morphology**

Epithelial

**Cell type**

Célula epitelial

**Growth properties**

Aderente

**Células HCE-T | 305255****Dados regulatórios**

<b>Citation</b>	HCE-T (número de catálogo da Cytion 305255)
<b>Biosafety level</b>	1
<b>NCBI_TaxID</b>	9606
<b>CellosaurusAccession</b>	CVCL_1272
<b>GMO Status</b>	GMO-S1: Esta linhagem de células epiteliais da córnea humana (HCE-T) contém uma construção da região inicial do SV40 (vetor RSV-T / pRSV-T), o que permite a imortalização. A inserção está integrada de forma estável em células epiteliais primárias da córnea humana. Esta classificação se aplica apenas na Alemanha e pode diferir em outros países.

**Dados biomoleculares**

<b>Víruses</b>	Transformante: plasmídeo RSV-T (pRSV-T). Esse plasmídeo é uma construção baseada no ori do SV40 que contém os genes da região precoce do SV40 e a repetição terminal longa do vírus do sarcoma de Rous.
<b>Products</b>	Queratina (64 kD)

**Manuseio**

<b>Culture Medium</b>	DMEM:Ham's F12 (1:1), p/v: 3,1 g/L de glicose, p/v: 2,5 mM de L-glutamina, p/v: 15 mM de HEPES, peso: 0,5 mM de piruvato de sódio, peso: 1,2 g/L de NaHCO <sub>3</sub> (número de artigo da Cytion 820400a)
<b>Supplements</b>	Adicione ao meio 5% de FBS, 1% de ITS (0,625 mg/mL de insulina humana, 0,625 mg/mL de transferrina humana, 0,625 microgramas/mL de selenito de sódio, 0,535 mg/mL de ácido linoleico, 125 mg/mL de BSA) e 10 ng/mL de EGF humano
<b>Dissociation Reagent</b>	Accutase

**Subculturing** Remova o meio antigo das células aderentes e lave-as com PBS sem cálcio nem magnésio. Para frascos T25, use 3 a 5 ml de PBS; para frascos T75, use 5 a 10 ml. Em seguida, cubra as células completamente com Accutase, utilizando 1 a 2 ml para frascos T25 e 2,5 ml para frascos T75. Deixe as células incubarem à temperatura ambiente por 8 a 10 minutos para que se desprendam. Após a incubação, misture delicadamente as células com 10 ml de meio para ressuspender, depois centrifugue a 300xg por 3 minutos. Descarte o sobrenadante, ressuspenda as células em meio fresco e transfira-as para novos frascos que já contenham meio fresco.

## Células HCE-T | 305255

### Freeze medium

Como meio de criopreservação, utilizamos meio de crescimento completo (incluindo FBS) + 10% de DMSO para garantir viabilidade adequada após o descongelamento, ou CM-1 (número de catálogo da Cytion 800100), que inclui osmoprotetores e estabilizadores metabólicos otimizados para melhorar a recuperação e reduzir o estresse induzido pela criopreservação.

### Thawing and Culturing Cells

1. Verifique se o frasco permanece profundamente congelado no momento da entrega, pois as células são enviadas em gelo seco para manter as temperaturas ideais durante o transporte.
2. Após o recebimento, armazene o criovial imediatamente a temperaturas abaixo de -150 °C para garantir a preservação da integridade celular ou prossiga para a etapa 3, caso seja necessária a cultura imediata.
3. Para cultura imediata, descongele rapidamente o frasco imergindo-o em um banho-maria a 37 °C com água limpa e um agente antimicrobiano, agitando suavemente por 40 a 60 segundos até que reste apenas um pequeno pedaço de gelo.
4. Realize todas as etapas subsequentes em condições estéreis em uma cabine de fluxo, desinfetando o criovial com etanol a 70% antes de abri-lo.
5. Abra cuidadosamente o frasco desinfetado e transfira a suspensão celular para um tubo de centrífuga de 15 ml contendo 8 ml de meio de cultura à temperatura ambiente, misturando delicadamente.
6. Centrifugue a mistura a 300 x g por 3 minutos para separar as células e descarte cuidadosamente o sobrenadante contendo o meio de congelamento residual.
7. Ressuspender suavemente o sedimento celular em 10 ml de meio de cultura fresco. Para células aderentes, dividir a suspensão entre dois frascos de cultura T25; para culturas em suspensão, transferir todo o meio para um frasco T25 a fim de promover a interação e o crescimento celular eficazes.
8. Siga os protocolos de subcultura estabelecidos para o crescimento contínuo e a manutenção da linhagem celular, garantindo resultados experimentais confiáveis.

### Incubation Atmosphere

37 °C, 5% de CO<sub>2</sub>, atmosfera umidificada.

### Shipping Conditions

As linhagens celulares criopreservadas são enviadas em gelo seco, em embalagens isoladas e validadas, com refrigerante suficiente para manter a temperatura em aproximadamente -78 °C durante todo o transporte. Ao receber a remessa, inspecione o recipiente imediatamente e transfira os frascos sem demora para o local de armazenamento adequado.

## Células HCE-T | 305255

### Storage Conditions

Para preservação a longo prazo, coloque os frascos em nitrogênio líquido em fase de vapor a uma temperatura entre aproximadamente  $-150$  e  $-196$  °C. O armazenamento a  $-80$  °C é aceitável apenas como uma etapa intermediária de curta duração antes da transferência para o nitrogênio líquido.

## Controle de Qualidade e Análise Molecular

### Sterility

A contaminação por micoplasma é descartada por meio de ensaios baseados em PCR e de métodos de detecção de micoplasma baseados em luminescência.

Para garantir que não haja contaminação por bactérias, fungos ou leveduras, as culturas celulares são submetidas a inspeções visuais diárias.