

Tế bào HCE-T | 305255

Thông tin chung

Description

HCE-T là một dòng tế bào biểu mô giác mạc người được biến đổi bởi SV40, có nguồn gốc từ biểu mô giác mạc nguyên phát của người. Dòng tế bào này được thiết lập thông qua quá trình nhiễm virus bằng vectơ lai tái tổ hợp SV40-adenovirus (Ad-SV40), cho phép biểu hiện ổn định kháng nguyên T lớn của SV40 và sự tăng sinh liên tục. Mục tiêu chính của quá trình đặc trưng ban đầu là tạo ra một dòng tế bào biểu mô giác mạc có khả năng tăng sinh liên tục mà không giải phóng các hạt virus tự do.

Trong môi trường nuôi cấy, các tế bào HCE-T thể hiện hình thái biểu mô “đá cuội” điển hình và phát triển thành các lớp đơn bám dính. Các đặc điểm siêu cấu trúc biểu mô như desmosome và vi lông đỉnh đã được báo cáo, và các tế bào này được mô tả là sản xuất keratin liên quan đến giác mạc có khối lượng phân tử 64 kD. Dưới điều kiện biệt hóa thích hợp (ví dụ: nuôi cấy trên giao diện không khí-dung dịch trên collagen), các tế bào HCE-T có thể hình thành cấu trúc nhiều lớp, phân tầng và phát triển các tính chất hàng rào có thể đo lường được, hỗ trợ việc sử dụng chúng trong nghiên cứu bề mặt mắt.

Tế bào HCE-T được sử dụng rộng rãi để nghiên cứu chức năng hàng rào biểu mô giác mạc, độ thấm và tác động của công thức, các quá trình di chuyển/sửa chữa, cũng như phản ứng tế bào đối với các kích thích viêm hoặc kích ứng. Tuy nhiên, mô hình biểu hiện của các protein vận chuyển và hồ sơ dấu hiệu biệt hóa có thể khác biệt so với giác mạc người tự nhiên và các hệ thống biểu mô limbal/giác mạc nguyên phát. Do đó, HCE-T phù hợp nhất cho các nghiên cứu cơ chế và so sánh in vitro, trong khi việc ngoại suy định lượng trực tiếp sang sự hấp thu giác mạc ở người in vivo hoặc sinh học biệt hóa giác mạc nên được thực hiện một cách thận trọng.

Organism

Con người

Tissue

Mắt, giác mạc, biểu mô

Synonyms

HCET, Tế bào biểu mô giác mạc người biến đổi, HCE, SV40-HCEC

Đặc điểm

Age

49 năm

Gender

Nữ

Ethnicity

Nhật Bản

Morphology

Thượng bì

Cell type

Tế bào biểu mô

Growth properties

Người tuân thủ

Tế bào HCE-T | 305255

Dữ liệu quy định

Citation	HCE-T (Số catalog Cytion 305255)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_1272
GMO Status	GMO-S1: Dòng tế bào biểu mô giác mạc người (HCE-T) này chứa một cấu trúc vùng sớm SV40 (RSV-T / véc-tơ pRSV-T), cho phép bất tử hóa. Phần chèn được tích hợp ổn định vào các tế bào biểu mô giác mạc người nguyên thủy. Phân loại này chỉ áp dụng trong phạm vi Đức và có thể khác nhau ở các khu vực khác.

Dữ liệu sinh học phân tử

Viruses	Transformant: plasmid RSV-T (pRSV-T). Plasmid này là một cấu trúc SV40 ori chứa các gen vùng sớm của SV40 và đoạn lặp đầu cuối dài của virus sarcoma Rous.
Products	Keratin (64 kDa)

Xử lý

Culture Medium	DMEM:Ham's F12 (tỷ lệ 1:1), chứa: 3,1 g/L glucose, chứa: 2,5 mM L-glutamine, chứa: 15 mM HEPES, chứa: 0,5 mM natri pyruvate, chứa: 1,2 g/L NaHCO ₃ (Số hiệu sản phẩm Cytion 820400a)
Supplements	Bổ sung vào môi trường nuôi cấy 5% FBS, 1% ITS (0,625 mg/mL insulin người, 0,625 mg/mL transferrin người, 0,625 microgam/mL natri selenit, 0,535 mg/mL axit linoleic, 125 mg/mL BSA) và 10 ng/mL EGF người
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Loại bỏ môi trường nuôi cấy cũ khỏi các tế bào bám dính và rửa chúng bằng PBS không chứa canxi và magiê. Đối với bình T25, sử dụng 3-5 ml PBS, và đối với bình T75, sử dụng 5-10 ml. Sau đó, phủ hoàn toàn các tế bào bằng Accutase, sử dụng 1-2 ml cho bình T25 và 2,5 ml cho bình T75. Để tế bào ủ ở nhiệt độ phòng trong 8-10 phút để tách chúng ra. Sau khi ủ, nhẹ nhàng trộn tế bào với 10 ml môi trường để tái phân tán chúng, sau đó ly tâm ở 300xg trong 3 phút. Loại bỏ dịch trên, tái phân tán tế bào trong môi trường tươi và chuyển chúng vào các bình mới đã chứa môi trường tươi.
Freeze medium	Như một môi trường bảo quản đông lạnh, chúng tôi sử dụng môi trường tăng trưởng hoàn chỉnh (bao gồm FBS) + 10% DMSO để đảm bảo độ sống sau khi rã đông, hoặc CM-1 (mã sản phẩm Cytion 800100), bao gồm các chất bảo vệ thẩm thấu và chất ổn định chuyển hóa được tối ưu hóa để nâng cao khả năng phục hồi và giảm stress do đông lạnh gây ra.

Tế bào HCE-T | 305255**Thawing and
Culturing Cells**

1. Xác nhận rằng ống nghiệm vẫn được đông lạnh sâu khi giao hàng, vì tế bào được vận chuyển trên đá khô để duy trì nhiệt độ tối ưu trong quá trình vận chuyển.
2. Khi nhận hàng, hãy bảo quản ống nghiệm đông lạnh ngay lập tức ở nhiệt độ dưới -150°C để đảm bảo tính toàn vẹn của tế bào, hoặc tiến hành bước 3 nếu cần nuôi cấy ngay lập tức.
3. Để nuôi cấy ngay lập tức, hãy rã đông ống nghiệm nhanh chóng bằng cách ngâm nó trong bồn nước 37°C với nước sạch và chất kháng khuẩn, khuấy nhẹ trong 40-60 giây cho đến khi còn lại một khối băng nhỏ.
4. Thực hiện tất cả các bước tiếp theo trong điều kiện vô trùng trong tủ hút khí, khử trùng ống cryovial bằng cồn 70% trước khi mở.
5. Mở ống đã khử trùng một cách cẩn thận và chuyển hỗn hợp tế bào vào ống ly tâm 15 ml chứa 8 ml môi trường nuôi cấy ở nhiệt độ phòng, khuấy nhẹ.
6. Ly tâm hỗn hợp ở $300 \times g$ trong 3 phút để tách tế bào và cẩn thận loại bỏ dịch siêu âm chứa môi trường đông lạnh còn lại.
7. Nhẹ nhàng hòa tan lại khối tế bào trong 10 ml môi trường nuôi cấy tươi. Đối với tế bào bám dính, chia hỗn hợp vào hai bình nuôi cấy T25; đối với tế bào nuôi cấy lơ lửng, chuyển toàn bộ môi trường vào một bình T25 để thúc đẩy tương tác và phát triển tế bào hiệu quả.
8. Tuân thủ các quy trình nuôi cấy con được thiết lập để duy trì sự phát triển và bảo quản dòng tế bào, đảm bảo kết quả thí nghiệm đáng tin cậy.

**Incubation
Atmosphere**

37°C , 5% CO_2 , môi trường ẩm.

Flask Coating

Không có

**Freezing
Procedure**

Các dòng tế bào được bảo quản bằng phương pháp đông lạnh được vận chuyển trên đá khô trong bao bì cách nhiệt đã được kiểm định, kèm theo lượng chất làm lạnh đủ để duy trì nhiệt độ khoảng -78°C trong suốt quá trình vận chuyển. Khi nhận hàng, hãy kiểm tra ngay lập tức bao bì và chuyển các ống nghiệm sang nơi lưu trữ phù hợp mà không chậm trễ.

**Shipping
Conditions**

Các dòng tế bào được bảo quản bằng phương pháp đông lạnh được vận chuyển trên đá khô trong bao bì cách nhiệt đã được kiểm định, kèm theo lượng chất làm lạnh đủ để duy trì nhiệt độ khoảng -78°C trong suốt quá trình vận chuyển. Khi nhận hàng, hãy kiểm tra ngay lập tức bao bì và chuyển các ống nghiệm sang nơi lưu trữ phù hợp mà không chậm trễ.

Tế bào HCE-T | 305255

Storage Conditions

Để bảo quản lâu dài, hãy đặt ống nghiệm vào nitơ lỏng ở pha hơi ở nhiệt độ khoảng -150 đến -196 °C. Việc bảo quản ở -80 °C chỉ được chấp nhận như một bước trung gian ngắn hạn trước khi chuyển sang nitơ lỏng.

Kiểm soát chất lượng / Hồ sơ di truyền / HLA

Sterility

Sự nhiễm khuẩn Mycoplasma được loại trừ bằng cả các phương pháp xét nghiệm dựa trên PCR và các phương pháp phát hiện Mycoplasma dựa trên phát quang.

Để đảm bảo không có nhiễm khuẩn vi khuẩn, nấm hoặc men, các mẫu nuôi cấy tế bào được kiểm tra trực quan hàng ngày.