Product sheet

Tế bào HCE-T | 305255

Thông tin chung

Description	Dòng tế bào HCE-T được phân lập từ tế bào biểu mô giác mạc người và đã được bất tử hóa bằng cách chuyển gen với plasmid RSV-T (pRSV-T). Plasmid này chứa vùng khởi đầu sao chép SV40 (SV40 ori) và bao gồm các gen vùng sớm SV40 cùng với vùng lặp lại đầu cuối dài của virus sarcoma Rous (RSV-LTR). Sự biến đổi di truyền này cho phép các tế bào HCE-T vượt qua quá trình lão hóa bình thường, cho phép chúng phát triển vô hạn. Mặc dù đã được bất tử hóa, các tế bào này vẫn giữ được nhiều đặc tính chức năng và hình thái của các tế bào biểu mô giác mạc nguyên phát, bao gồm hình thái biểu mô điển hình, khả năng tạo lớp đơn bám dính và biểu hiện cytokeratins cùng các dấu hiệu biểu mô thiết yếu khác. Do đó, các tế bào HCE-T là nguồn tài nguyên vô giá cho nghiên cứu mắt in vitro. Tế bào HCE-T được sử dụng rộng rãi để nghiên cứu các khía cạnh khác nhau của sinh học biểu mô giác mạc, như sự bám dính, di chuyển, biệt hóa và phản ứng với các kích thích bên ngoài, bao gồm các tác nhân điều trị và các yếu tố stress môi trường. Khả năng mô phỏng điều kiện giác mạc trong cơ thể của chúng khiến chúng trở nên rất phù hợp để nghiên cứu các bệnh lý giác mạc như hội chứng khô mắt, viêm giác mạc và loét giác mạc. Các tế bào này đóng vai trò quan trọng trong việc khám phá cơ chế bệnh lý và thử nghiệm các phương pháp điều trị tiềm năng. Ngoài ra, tế bào HCE-T đóng vai trò quan trọng trong phát triển và thử nghiệm thuốc cho các ứng dụng nhãn khoa, cung cấp một nền tảng đáng tin cậy để đánh giá tính an toàn và hiệu quả của các loại thuốc mới và hệ thống đưa thuốc. Khả năng nuôi cấy lâu dài của chúng cho phép duy trì các nỗ lực nghiên cứu, thúc đẩy sự phát triển của các liệu pháp mới nhằm cải thiện sức khỏe mắt.
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

Dữ liệu quy định

Tế bào HCE-T | 305255

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 x 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

Để đạt được độ bám dính và khả năng sống sót tối ưu sau khi rã đông, chúng tôi khuyến nghị sử dụng **các ống nghiệm hoặc đĩa được phủ collagen**.

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.
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.