

Клетки SRA01-04 | 305436

Обща информация

Description

Клетъчната линия SRA01/04 е имортализирана линия от епителни клетки на човешкия кристалин, разработена с цел преодоляване на ограниченията, свързани с първичните култури от епителни клетки на човешкия кристалин (HLE). Тези ограничения включват ниската им пролиферативна способност и трудността при получаването на достатъчно количество клетки от донорски кристалини. SRA01/04 е получена от първични HLE клетки, взети от новородени, подложени на хирургична интервенция поради ретинопатия на недоносените. Безсмъртието е постигнато чрез трансфекция с плазмид, носещ гена на големия Т-антиген на SV40 под контрола на RSV промотора. Този подход избягва използването на жив вирус и позволява селекция на еднороден клон с постоянни характеристики.

Клетките SRA01/04 проявяват стабилна пролиферация през 130 пасажа с ниво на удвояване на популацията от приблизително 3,5 на пасаж. Морфологично те поддържат монослой с епителни характеристики. Хромозомният анализ разкри хипотетраплоиден кариотип, съответстващ на безсмъртния статус. Изoenзимният фенотип потвърди човешкия им произход. Важно е да се отбележи, че клетъчната линия запазва специфичните за лещата молекулярни характеристики, включително експресията на α A- и β B-кристалини и алдозоредуктаза, макар и при по-ниски нива на протеини, отколкото се наблюдават в първичните култури на HLE. мРНК и за двата кристалина също беше открита чрез RT-PCR, а секвенирането потвърди 100% идентичност с публикувани човешки последователности. Това прави SRA01/04 първата установена човешка клетъчна линия от лещата, за която е доказано, че експресира както α A-, така и β B-кристалини.

В допълнение към експресията на кристалини, SRA01/04 експресира алдозоредуктаза – ензим, участващ в полиолния път, който е свързан с образуването на катаракта. Макар че за оптимален растеж са необходими 20% фетално телешко серум, клетките могат да оцелеят и да пролиферират при по-ниски нива на серум или дори в условия без серум, ако предварително са прикрепени към културални съдове. Тази адаптивност, заедно със стабилния им фенотип, специфичен за лещата, превръща SRA01/04 в ценен модел за изучаване на физиологията на лещата, генната регулация в епитела на лещата и механизмите, лежащи в основата на образуването на катаракта.

Organism

Човек

Tissue

Око, очен обектив, епител

Synonyms

SRA 01-04, HLEC-SRA 01-04, HLE-SRA-01-04, SRA01-04 (HLE), SRA 01/04, HLEC-SRA 01/04, HLE-SRA-01/04, SRA01/04 (HLE)

Характеристики

Age

3 месеца

Gender

Мъжки

Morphology

Подобни на епител

Клетки SRA01-04 | 305436

Cell type Очна леща**Growth properties** Придържащи се

Регулаторни данни

Citation SRA01-04 (каталожен номер на Cytion 305436)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_7157**GMO Status** GMO-S1: Тази клетъчна линия от епител на човешкия кристалин SRA01-04 съдържа конструкт на големия Т-антиген на SV40, който позволява провеждането на изследвания върху очния кристалин. Тази класификация важи само в Германия и може да се различава в други страни.

Биомолекулярни данни

Protein expression Генетична интеграция: Метод = Трансфекция; Ген = UniProtKB; P03070; Големият Т-антиген на SV40**Isoenzymes** LD, NP

Работа с

Culture Medium DMEM, w: 4,5 g/L глюкоза, w: 4 mM L-глутамин, w: 3,7 g/L NaHCO₃, w: 1,0 mM натриев пируват (номер на изделието на Cytion 820300a)**Supplements** Допълнете средата с 20% FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Seeding density** $2-4 \cdot 10^4 / \text{cm}^2$ **Fluid renewal** 2 пъти седмично

Клетки SRA01-04 | 305436

Freeze medium

Като среда за криоконсервация използваме пълна среда за растеж (включително FBS) + 10% DMSO за адекватна жизнеспособност след размразяване или CM-1 (каталожен номер 800100 на Cytion), която включва оптимизирани осмопротектори и метаболитни стабилизатори за подобряване на възстановяването и намаляване на криоиндуцирания стрес.

Thawing and Culturing Cells

1. Уверете се, че флаконът остава дълбоко замразен при доставката, тъй като клетките се транспортират със сух лед, за да се поддържат оптимални температури по време на транспортирането.
2. При получаване съхранявайте незабавно криовиолата при температури под -150°C , за да осигурите запазване на клетъчната цялост, или преминете към стъпка 3, ако е необходимо незабавно култивиране.
3. За незабавно култивиране бързо размразете флакона, като го потопите във водна баня с чиста вода и антимикробен агент с температура 37°C , като разбърквате внимателно в продължение на 40-60 секунди, докато остане малка ледена бучка.
4. Извършвайте всички следващи стъпки при стерилни условия в аспиратор, като преди отваряне дезинфекцирате криовиолата със 70% етанол.
5. Внимателно отворете дезинфекцирания флакон и прехвърлете клетъчната суспензия в 15 ml центрофужна епруветка, съдържаща 8 ml хранителна среда със стайна температура, като разбърквате внимателно.
6. Центрофугирайте сместа при 300 x g в продължение на 3 минути, за да отделите клетките, и внимателно изхвърлете супернатантата, съдържаща остатъчна замразяваща среда.
7. Внимателно ресуспендирайте клетъчната пелета в 10 ml прясна хранителна среда. За адхезивни клетки разделете суспензията между две колби T25; за суспензионни култури прехвърлете цялата среда в една колба T25, за да стимулирате ефективното взаимодействие и растеж на клетките.
8. Придържайте се към установените протоколи за субкултивиране за непрекъснат растеж и поддържане на клетъчната линия, като гарантирате надеждни експериментални резултати.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , овлажнена атмосфера.

Клетки SRA01-04 | 305436

Shipping Conditions

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед в утвърдени, изолирани опаковки с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително -78 °C по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

Storage Conditions

За дълготрайно съхранение поставете флаконите в течен азот в парна фаза при температура около -150 до -196 °C. Съхранението при -80 °C е приемливо само като кратък междинен етап преди прехвърлянето в течен азот.

Контрол на качеството и молекулярен анализ

Sterility

Замърсяването с микопlasма се изключва както чрез PCR-базирани анализи, така и чрез луминесцентни методи за откриване на микопlasма.

За да се гарантира, че няма бактериално, гъбично или дрождево замърсяване, клетъчните култури се подлагат на ежедневни визуални проверки.