

SRA01-04-celler | 305436

Generel information

Description

SRA01/04-cellelinjen er en immortaliseret human linseseptelcellelinje, der er udviklet for at overvinde de begrænsninger, der er forbundet med primærkulturer af humane linseseptelceller (HLE-celler). Disse begrænsninger omfatter deres lave proliferationskapacitet og vanskelighederne ved at skaffe tilstrækkelige mængder celler fra donorlinser. SRA01/04 stammer fra primære HLE-celler, der blev udvundet fra spædbørn, der blev opereret for præmaturitetsretinopati. Immortaliseringen blev opnået ved transfektion med et plasmid, der bærer genet for det store T-antigen fra SV40 under kontrol af RSV-promotoren. Denne fremgangsmåde undgår brugen af levende virus og muliggør udvælgelse af en ensartet klon med konsistente egenskaber.

SRA01/04-celler udviser stabil proliferation over 130 passager med en fordoblingshastighed på ca. 3,5 pr. passage. Morfologisk opretholder de et monolag med epitelkarakteristika. Kromosomanalyse afslørede en hypotetraploid karyotype, hvilket er i overensstemmelse med en udødeliggjort status. Isozymfenotypen bekræftede deres menneskelige oprindelse. Det er vigtigt at bemærke, at cellelinjen bevarer linsespecifikke molekulære træk, herunder ekspressionen af α A- og β B-krystalliner samt aldosereduktase, om end på lavere proteinniveauer end det, der ses i primære HLE-kulturer. mRNA for begge krystalliner blev også påvist via RT-PCR, og sekventering bekræftede 100 % identitet med offentliggjorte humane sekvenser. Dette gør SRA01/04 til den første etablerede humane linsecellelinje, der har vist sig at udtrykke både α A- og β B-krystalliner.

Ud over krystallin-ekspression udtrykker SRA01/04 aldosereduktase, et enzym, der er involveret i polyolvejen, hvilket er relevant for kataraktdannelse. Selvom optimal vækst kræver 20 % føtal bovint serum, kan cellerne overleve og formere sig med reducerede serumniveauer eller endda under serumfrie betingelser, hvis de på forhånd er fastgjort til dyrkningsskåle. Denne tilpasningsevne, sammen med deres stabile linsespecifikke fænotype, gør SRA01/04 til en værdifuld model til undersøgelse af linsens fysiologi, genregulering i linseepitelet og mekanismerne bag kataraktdannelse.

Organism

Menneske

Tissue

Øje, øjenlinse, epitel

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)

Karakteristika

Age

3 måneder

Gender

Mand

Morphology

Epitel-lignende

Cell type

Øjenlinse

SRA01-04-celler | 305436**Growth properties**

Vedhæftende

Regulatoriske data**Citation**

SRA01-04 (Cytion-katalognummer 305436)

Biosafety level

1

NCBI_TaxID

9606

CellosaurusAccession

CVCL_7157

GMO Status

GMO-S1: Denne SRA01-04-epitelcellelinje fra menneskelige øjenlins indeholder et SV40-konstrukt med det store T-antigen, hvilket muliggør forskning i øjenlins. Denne klassificering gælder kun i Tyskland og kan være anderledes andre steder.

Biomolekylære data**Protein expression**

Genetisk integration: Metode=Transfektion; Gen=UniProtKB; P03070; SV40-stort T-antigen

Isoenzymes

LD, NP

Håndtering**Culture Medium**DMEM, w: 4,5 g/L glukose, w: 4 mM L-glutamin, w: 3,7 g/L NaHCO₃, w: 1,0 mM natriumpyruvat (Cytion artikelnummer 820300a)**Supplements**

Suppler mediet med 20% FBS

Dissociation Reagent

Accutase

Seeding density $2-4 \cdot 10^4 / \text{cm}^2$ **Fluid renewal**

2 gange om ugen

SRA01-04-celler | 305436

Freeze medium

Som kryopræserveringsmedium bruger vi komplet vækstmedium (inklusive FBS) + 10 % DMSO for tilstrækkelig levedygtighed efter optøning eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som indeholder optimerede osmokeskyttende stoffer og metaboliske stabilisatorer for at forbedre genopretningen og reducere kryo-induceret stress.

Thawing and Culturing Cells

1. Bekræft, at hætteglasset forbliver dybfrosset ved levering, da cellerne sendes på tør is for at opretholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved modtagelsen skal du enten straks opbevare kryohætteglasset ved temperaturer under -150 °C for at sikre, at cellernes integritet bevares, eller gå videre til trin 3, hvis øjeblikkelig dyrkning er påkrævet.
3. Ved øjeblikkelig dyrkning optøs hætteglasset hurtigt ved at nedsænke det i et 37 °C varmt vandbad med rent vand og et antimikrobielt middel og røre forsigtigt i 40-60 sekunder, indtil der kun er en lille isklump tilbage.
4. Udfør alle efterfølgende trin under sterile forhold i en flowhætte, og desinficer kryovialet med 70 % ethanol, før det åbnes.
5. Åbn forsigtigt det desinficerede hætteglas, og overfør cellesuspensionen til et 15 ml centrifugerør, der indeholder 8 ml kulturmedium ved stuetemperatur, og bland forsigtigt.
6. Centrifuger blandingen ved 300 x g i 3 minutter for at adskille cellerne, og kassér omhyggeligt supernatanten, der indeholder resterende frysemedium.
7. Resuspender forsigtigt cellepelleten i 10 ml frisk dyrkningsmedium. For klæbende celler deles suspensionen mellem to T25-kulturkolber; for suspensionskulturer overføres alt mediet til en T25-kolbe for at fremme effektiv celleinteraktion og -vækst.
8. Overhold etablerede subkulturprotokoller for fortsat vækst og vedligeholdelse af cellelinjen, hvilket sikrer pålidelige eksperimentelle resultater.

Incubation Atmosphere

37°C, 5%_{CO2}, befugt atmosfære.

Shipping Conditions

Kryopræservede cellelinjer sendes på tør is i valideret, isoleret emballage med tilstrækkeligt kølemiddel til at opretholde ca. -78 °C under hele transporten. Ved modtagelse skal beholderen straks inspiceres, og hætteglassene skal straks overføres til passende opbevaring.

SRA01-04-celler | 305436

**Storage
Conditions**

For langtidsopbevaring anbringes hætteglas i flydende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Opbevaring ved -80 °C er kun acceptabelt som et kort mellemtrin før overførsel til flydende nitrogen.

Kvalitetskontrol og molekylær analyse

Sterility

Mycoplasma-kontaminering udelukkes ved hjælp af både PCR-baserede assays og luminescensbaserede mycoplasma-detektionsmetoder.

For at sikre, at der ikke er nogen bakterie-, svampe- eller gærforurening, underkastes cellekulturerne daglige visuelle inspektioner.