

SRA01-04-Zellen | 305436

Allgemeine Informationen

Description

Die Zelllinie SRA01/04 ist eine immortalisierte menschliche Linsenepithelzelllinie, die entwickelt wurde, um die mit Primärkulturen menschlicher Linsenepithelzellen (HLE-Zellen) verbundenen Einschränkungen zu überwinden. Zu diesen Einschränkungen zählen ihre geringe Proliferationsfähigkeit und die Schwierigkeit, ausreichende Zellmengen aus Spenderlinsen zu gewinnen. SRA01/04 wurde aus primären HLE-Zellen gewonnen, die von Säuglingen stammten, die wegen einer Frühgeborenen-Retinopathie operiert wurden. Die Immortalisierung wurde durch Transfektion mit einem Plasmid erreicht, das das Gen für das große T-Antigen von SV40 unter der Kontrolle des RSV-Promotors trägt. Dieser Ansatz vermeidet die Verwendung von lebenden Viren und ermöglicht die Selektion eines einheitlichen Klons mit konsistenten Eigenschaften.

SRA01/04-Zellen zeigen über 130 Passagen hinweg eine stabile Proliferation mit einer Populationsverdopplungsrate von etwa 3,5 pro Passage. Morphologisch bilden sie eine Monoschicht mit epithelialen Merkmalen. Die Chromosomenanalyse ergab einen hypotetraploiden Karyotyp, was mit dem Status der Immortalisierung übereinstimmt. Der Isoenzym-Phänotyp bestätigte ihren menschlichen Ursprung. Wichtig ist, dass die Zelllinie linsenspezifische molekulare Merkmale beibehält, darunter die Expression von α - und β -Kristallinen sowie von Aldosereduktase, wenn auch in geringeren Proteinkonzentrationen als in primären HLE-Kulturen. mRNA für beide Kristalline wurde ebenfalls mittels RT-PCR nachgewiesen, und die Sequenzierung bestätigte eine 100-prozentige Identität mit veröffentlichten menschlichen Sequenzen. Damit ist SRA01/04 die erste etablierte menschliche Linsenzelllinie, von der nachgewiesen wurde, dass sie sowohl α A- als auch β B-Kristalline exprimiert.

Zusätzlich zur Kristallin-Expression exprimiert SRA01/04 Aldosereduktase, ein Enzym, das am Polyolweg beteiligt ist, der für die Kataraktentstehung relevant ist. Zwar erfordert ein optimales Wachstum 20 % fötales Rinderserum, doch können die Zellen bei reduzierten Serumkonzentrationen oder sogar unter serumfreien Bedingungen überleben und sich vermehren, sofern sie zuvor an Kulturplatten anhaftet wurden. Diese Anpassungsfähigkeit sowie ihr stabiler linsenspezifischer Phänotyp machen SRA01/04 zu einem wertvollen Modell für die Untersuchung der Linsenphysiologie, der Genregulation im Linsenepithel und der Mechanismen, die der Kataraktbildung zugrunde liegen.

Organism

Menschen

Tissue

Auge, Augenlinse, Epithel

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)

Merkmale

Age

3 Monate

Gender

Männlich

Morphology

Epithelähnlich

SRA01-04-Zellen | 305436

Cell type	Augenlinse
------------------	------------

Growth properties	Adhärent
--------------------------	----------

Regulatorische Daten

Citation	SRA01-04 (Cytion-Katalognummer 305436)
-----------------	--

Biosafety level	1
------------------------	---

NCBI_TaxID	9606
-------------------	------

CellosaurusAccession	CVCL_7157
-----------------------------	-----------

GMO Status	GMO-S1: Diese menschliche Linsenepithelzelllinie SRA01-04 enthält ein SV40-Konstrukt des großen T-Antigens, das die Forschung an der Augenlinse ermöglicht. Diese Einstufung gilt nur in Deutschland und kann in anderen Ländern abweichen.
-------------------	---

Biomolekulare Daten

Protein expression	Genetische Integration: Methode = Transfektion; Gen = UniProtKB; P03070; großes T-Antigen von SV40
---------------------------	--

Isoenzymes	LD, NP
-------------------	--------

Handhabung

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/L Glucose, w: 4 mM L-Glutamin, w: 3,7 g/L NaHCO ₃ , w: 1,0 mM Natriumpyruvat (Cytion-Artikelnummer 820300a)
-----------------------	---

Supplements	Ergänzen Sie das Medium mit 20% FBS
--------------------	-------------------------------------

Dissociation Reagent	Accutase
-----------------------------	----------

Seeding density	2-4*10 ⁴ /cm ²
------------------------	--------------------------------------

Fluid renewal	2 Mal pro Woche
----------------------	-----------------

SRA01-04-Zellen | 305436

Freeze medium

Als Kryokonservierungsmedium verwenden wir komplettes Wachstumsmedium (einschließlich FBS) + 10 % DMSO für eine angemessene Lebensfähigkeit nach dem Auftauen oder CM-1 (Cytion Katalognummer 800100), das optimierte Osmoprotektoren und Stoffwechselstabilisatoren enthält, um die Erholung zu verbessern und kryoinduzierten Stress zu reduzieren.

Thawing and Culturing Cells

1. Vergewissern Sie sich, dass das Fläschchen bei der Lieferung tiefgefroren ist, da die Zellen auf Trockeneis versandt werden, um während des Transports optimale Temperaturen zu erhalten.
2. Lagern Sie das Kryofläschchen nach Erhalt entweder sofort bei Temperaturen unter -150 °C, um die Unversehrtheit der Zellen zu gewährleisten, oder fahren Sie mit Schritt 3 fort, wenn eine sofortige Kultivierung erforderlich ist.
3. Für eine sofortige Kultivierung tauen Sie das Fläschchen schnell auf, indem Sie es in ein 37°C warmes Wasserbad mit sauberem Wasser und einem antimikrobiellen Mittel eintauchen und 40-60 Sekunden lang vorsichtig schütteln, bis ein kleiner Eisklumpen zurückbleibt.
4. Führen Sie alle weiteren Schritte unter sterilen Bedingungen in einer Abzugshaube durch und desinfizieren Sie das Kryo-Fläschchen vor dem Öffnen mit 70%igem Ethanol.
5. Das desinfizierte Fläschchen vorsichtig öffnen und die Zellsuspension unter vorsichtigem Mischen in ein 15-ml-Zentrifugenröhrchen mit 8 ml Kulturmedium bei Raumtemperatur überführen.
6. Zentrifugieren Sie das Gemisch 3 Minuten lang bei 300 x g, um die Zellen abzutrennen, und werfen Sie den Überstand mit dem restlichen Gefriermedium vorsichtig.
7. Das Zellpellet vorsichtig in 10 ml frischem Kulturmedium resuspendieren. Bei adhären Zellen die Suspension auf zwei T25-Kulturflaschen aufteilen; bei Suspensionskulturen das gesamte Medium in eine T25-Flasche überführen, um eine effektive Zellinteraktion und ein effektives Wachstum zu fördern.
8. Halten Sie sich an die festgelegten Subkulturprotokolle, um ein kontinuierliches Wachstum und die Aufrechterhaltung der Zelllinie zu gewährleisten und zuverlässige Versuchsergebnisse zu erzielen.

Incubation Atmosphere

37°C, 5%_{CO2}, befeuchtete Atmosphäre.

Shipping Conditions

Kryokonservierte Zelllinien werden auf Trockeneis in einer validierten, isolierten Verpackung mit ausreichend Kühlmittel versandt, um während des gesamten Transports eine Temperatur von etwa -78 °C aufrechtzuerhalten. Prüfen Sie den Behälter bei Erhalt sofort und bringen Sie die Fläschchen unverzüglich in ein geeignetes Lager.

SRA01-04-Zellen | 305436

Storage Conditions

Zur Langzeitkonservierung werden die Fläschchen in flüssigem Stickstoff bei etwa -150 bis -196 °C gelagert. Eine Lagerung bei -80 °C ist nur als kurzer Zwischenschritt vor der Überführung in flüssigen Stickstoff akzeptabel.

Qualitätskontrolle und molekulare Analyse

Sterility

Eine Kontamination mit Mykoplasmen wird sowohl durch PCR-basierte Assays als auch durch lumineszenzbasierte Mykoplasmen-Nachweisverfahren ausgeschlossen.

Um sicherzustellen, dass keine Kontamination mit Bakterien, Pilzen oder Hefen vorliegt, werden die Zellkulturen täglich visuell überprüft.