

Cellules SRA01-04 | 305436

Informations générales

Description

La lignée cellulaire SRA01/04 est une lignée de cellules épithéliales du cristallin humain immortalisées, mise au point pour pallier les limites associées aux cultures primaires de cellules épithéliales du cristallin humain (HLE). Ces limites comprennent leur faible capacité de prolifération et la difficulté à obtenir des quantités suffisantes de cellules à partir des cristallins de donneurs. La lignée SRA01/04 a été dérivée de cellules HLE primaires prélevées chez des nourrissons ayant subi une intervention chirurgicale pour une rétinopathie du prématuré. L'immortalisation a été réalisée par transfection avec un plasmide portant le gène de l'antigène T majeur du SV40 sous le contrôle du promoteur RSV. Cette approche évite l'utilisation d'un virus vivant et permet la sélection d'un clone uniforme présentant des caractéristiques constantes.

Les cellules SRA01/04 présentent une prolifération stable sur plus de 130 passages, avec un taux de doublement de la population d'environ 3,5 par passage. Sur le plan morphologique, elles conservent une monocouche présentant des caractéristiques épithéliales. L'analyse chromosomique a révélé un caryotype hypotétraploïde, compatible avec un statut d'immortalisation. Le phénotype isozymique a confirmé leur origine humaine. Il est important de noter que la lignée cellulaire conserve des caractéristiques moléculaires spécifiques au cristallin, notamment l'expression des cristallines α A et β B ainsi que de l'aldose réductase, bien qu'à des niveaux protéiques inférieurs à ceux observés dans les cultures primaires de HLE. L'ARNm des deux cristallines a également été détecté par RT-PCR, et le séquençage a confirmé une identité à 100 % avec les séquences humaines publiées. Cela fait de SRA01/04 la première lignée cellulaire humaine du cristallin établie dont il a été démontré qu'elle exprime à la fois les cristallines α A et β B.

Outre l'expression des cristallines, la lignée SRA01/04 exprime l'aldose réductase, une enzyme impliquée dans la voie des polyols, qui joue un rôle dans la formation de la cataracte. Bien qu'une croissance optimale nécessite 20 % de sérum fœtal bovin, les cellules peuvent survivre et proliférer avec des concentrations sériques réduites, voire dans des conditions sans sérum, si elles sont préalablement fixées sur des boîtes de culture. Cette adaptabilité, associée à leur phénotype stable spécifique au cristallin, fait de la lignée SRA01/04 un modèle précieux pour l'étude de la physiologie du cristallin, de la régulation génique dans l'épithélium du cristallin et des mécanismes sous-jacents à la formation de la cataracte.

Organism Humain**Tissue** Œil, cristallin, épithélium**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)

Caractéristiques

Age 3 mois**Gender** Homme**Morphology** De type épithélial

Cellules SRA01-04 | 305436**Cell type** Lentille oculaire**Growth properties** Adhérent**Données réglementaires****Citation** SRA01-04 (référence Cytion 305436)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_7157**GMO Status** GMO-S1 : Cette lignée épithéliale du cristallin humain SRA01-04 contient une construction de l'antigène T de grande taille du SV40 permettant la recherche sur le cristallin. Cette classification s'applique uniquement en Allemagne et peut varier dans d'autres pays.**Données biomoléculaires****Protein expression** Intégration génétique : Méthode = Transfection ; Gène = UniProtKB ; P03070 ; Antigène T majeur du SV40**Isoenzymes** LD, NP**Manipulation****Culture Medium** DMEM, w : 4.5 g/L Glucose, w : 4 mM L-Glutamine, w : 3.7 g/L NaHCO₃, w : 1.0 mM Pyruvate de sodium (numéro d'article Cytion 820300a)**Supplements** Compléter le milieu avec 20% de FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Seeding density** $2-4 \times 10^4 / \text{cm}^2$ **Fluid renewal** 2 fois par semaine

Cellules SRA01-04 | 305436

Freeze medium

Comme milieu de cryoconservation, nous utilisons un milieu de croissance complet (comprenant du FBS) + 10 % de DMSO pour une viabilité adéquate après décongélation, ou CM-1 (numéro de catalogue 800100 de Cytion), qui comprend des osmoprotectants et des stabilisateurs métaboliques optimisés pour améliorer la récupération et réduire le stress induit par la cryogénisation.

Thawing and Culturing Cells

1. Confirmer que le flacon est toujours congelé à la livraison, car les cellules sont expédiées sur de la glace sèche pour maintenir des températures optimales pendant le transport.
2. Dès réception, soit conserver immédiatement le cryovial à des températures inférieures à -150°C pour assurer la préservation de l'intégrité cellulaire, soit passer à l'étape 3 si une mise en culture immédiate est nécessaire.
3. Pour une mise en culture immédiate, décongeler rapidement le flacon en l'immergeant dans un bain-marie à 37°C avec de l'eau propre et un agent antimicrobien, en l'agitant doucement pendant 40 à 60 secondes jusqu'à ce qu'il ne reste qu'un petit amas de glace.
4. Effectuer toutes les étapes suivantes dans des conditions stériles sous une hotte à flux, en désinfectant le cryovial avec de l'éthanol à 70 % avant de l'ouvrir.
5. Ouvrir soigneusement le flacon désinfecté et transférer la suspension cellulaire dans un tube à centrifuger de 15 ml contenant 8 ml de milieu de culture à température ambiante, en mélangeant doucement.
6. Centrifuger le mélange à 300 x g pendant 3 minutes pour séparer les cellules et jeter soigneusement le surnageant contenant le milieu de congélation résiduel.
7. Remettre doucement en suspension le culot cellulaire dans 10 ml de milieu de culture frais. Pour les cellules adhérentes, répartir la suspension entre deux flacons de culture T25 ; pour les cultures en suspension, transférer tout le milieu dans un seul flacon T25 afin de favoriser une interaction et une croissance efficaces des cellules.
8. Respecter les protocoles de sous-culture établis pour une croissance et un entretien continus de la lignée cellulaire, garantissant ainsi des résultats expérimentaux fiables.

Incubation Atmosphere

37°C, 5%_{CO2}, atmosphère humidifiée.

Shipping Conditions

Les lignées cellulaires cryoconservées sont expédiées sur glace sèche dans des emballages isolés et validés, avec suffisamment de réfrigérant pour maintenir une température d'environ -78 °C tout au long du transport. À la réception, inspecter immédiatement le conteneur et transférer sans délai les flacons dans un lieu de stockage approprié.

Cellules SRA01-04 | 305436

Storage Conditions

Pour une conservation à long terme, placer les flacons dans de l'azote liquide en phase vapeur à une température comprise entre -150 et -196 °C environ. Le stockage à -80 °C n'est acceptable qu'en tant qu'étape intermédiaire de courte durée avant le transfert dans l'azote liquide.

Contrôle qualité et analyse moléculaire

Sterility

La contamination par les mycoplasmes est exclue à l'aide de tests basés sur la PCR et de méthodes de détection des mycoplasmes basées sur la luminescence.

Pour s'assurer de l'absence de contamination bactérienne, fongique ou levurienne, les cultures cellulaires font l'objet d'inspections visuelles quotidiennes.