

Sel SRA01-04 | 305436

Informasi umum

Description

Garis sel SRA01/04 adalah garis sel epitel lensa manusia yang diimortalkan, yang dikembangkan untuk mengatasi keterbatasan yang terkait dengan kultur primer sel epitel lensa manusia (HLE). Keterbatasan tersebut meliputi kapasitas proliferasi yang rendah serta kesulitan dalam memperoleh jumlah sel yang cukup dari lensa donor. SRA01/04 berasal dari sel HLE primer yang diperoleh dari bayi yang menjalani operasi untuk retinopati prematuritas. Imortalisasi dicapai melalui transfeksi dengan plasmid yang membawa gen antigen T besar SV40 di bawah kendali promotor RSV. Pendekatan ini menghindari penggunaan virus hidup dan memungkinkan seleksi klon seragam dengan karakteristik yang konsisten.

Sel SRA01/04 menunjukkan proliferasi yang stabil selama lebih dari 130 kali pemindahan kultur dengan tingkat penggandaan populasi sekitar 3,5 per pemindahan. Secara morfologis, sel-sel ini mempertahankan lapisan tunggal dengan karakteristik epitel. Analisis kromosom menunjukkan kariotipe hipotetraploid, yang sesuai dengan status abadi. Fenotipe isoenzim mengonfirmasi asal-usulnya dari manusia. Yang penting, garis sel ini mempertahankan ciri-ciri molekuler spesifik lensa, termasuk ekspresi kristalin α A dan β B serta aldose reduktase, meskipun pada tingkat protein yang lebih rendah dibandingkan dengan yang terlihat pada kultur HLE primer. mRNA untuk kedua kristalin tersebut juga terdeteksi melalui RT-PCR, dan sekuensing mengonfirmasi identitas 100% dengan urutan manusia yang telah dipublikasikan. Hal ini menjadikan SRA01/04 sebagai garis sel lensa manusia pertama yang terbukti mengekspresikan kristalin α A dan β B.

Selain ekspresi kristalin, SRA01/04 mengekspresikan aldose reduktase, enzim yang terlibat dalam jalur poliol, yang relevan dengan pembentukan katarak. Meskipun pertumbuhan optimal memerlukan 20% serum sapi janin, sel-sel ini dapat bertahan hidup dan berkembang biak dengan kadar serum yang lebih rendah atau bahkan dalam kondisi bebas serum jika telah ditempelkan terlebih dahulu pada wadah kultur. Kemampuan beradaptasi ini, bersama dengan fenotipe spesifik lensa yang stabil, menjadikan SRA01/04 sebagai model yang berharga untuk mempelajari fisiologi lensa, regulasi gen pada epitel lensa, dan mekanisme yang mendasari pembentukan katarak.

Organism

Manusia

Tissue

Mata, lensa mata, 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)

Karakteristik

Age

3 bulan

Gender

Laki-laki

Morphology

Seperti epitel

Cell type

Lensa mata

Sel SRA01-04 | 305436

Growth properties	Patuh
--------------------------	-------

Data Peraturan

Citation	SRA01-04 (nomor katalog Cytion 305436)
-----------------	--

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

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

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

GMO Status	GMO-S1: Garis sel epitel lensa manusia SRA01-04 ini mengandung konstruksi antigen T besar SV40 yang memungkinkan dilakukannya penelitian mengenai lensa mata. Klasifikasi ini hanya berlaku di Jerman dan mungkin berbeda di negara lain.
-------------------	---

Data Biomolekuler

Protein expression	Integrasi genetik: Metode=Transfeksi; Gen=UniProtKB; P03070; Antigen T besar SV40
---------------------------	---

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

Penanganan

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/L Glukosa, w: 4 mM L-Glutamin, w: 3,7 g/L NaHCO ₃ , w: 1,0 mM Natrium piruvat (Nomor artikel Cytion 820300a)
-----------------------	--

Supplements	Tambahkan media dengan 20% FBS
--------------------	--------------------------------

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

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

Fluid renewal	2 kali per minggu
----------------------	-------------------

Sel SRA01-04 | 305436**Freeze
medium**

Sebagai media kriopreservasi, kami menggunakan media pertumbuhan lengkap (termasuk FBS) + 10% DMSO untuk viabilitas pasca-pencairan yang memadai, atau CM-1 (nomor katalog Cytion 800100), yang mencakup osmoprotektan yang dioptimalkan dan penstabil metabolisme untuk meningkatkan pemulihan dan mengurangi stres yang diinduksi kriopreservasi.

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Pastikan botol tetap dalam keadaan beku pada saat pengiriman, karena sel dikirim dengan es kering untuk mempertahankan suhu optimal selama perjalanan.
2. Setelah diterima, segera simpan cryovial pada suhu di bawah -150°C untuk memastikan pelestarian integritas sel, atau lanjutkan ke langkah 3 jika kultur segera diperlukan.
3. Untuk kultur segera, segera cairkan botol dengan merendamnya dalam penangas air bersuhu 37°C dengan air bersih dan agen antimikroba, aduk perlahan selama 40-60 detik hingga gumpalan es kecil tetap ada.
4. Lakukan semua langkah selanjutnya dalam kondisi steril di dalam tudung alir, desinfektan kriovial dengan etanol 70% sebelum dibuka.
5. Buka botol yang telah didesinfeksi dengan hati-hati dan pindahkan suspensi sel ke dalam tabung sentrifugasi 15 ml yang berisi 8 ml media kultur suhu kamar, aduk perlahan.
6. Sentrifus campuran pada $300 \times g$ selama 3 menit untuk memisahkan sel dan dengan hati-hati membuang supernatan yang mengandung sisa media pembekuan.
7. Resuspensi pelet sel dengan hati-hati dalam 10 ml medium kultur segar. Untuk sel yang melekat, bagi suspensi di antara dua labu kultur T25; untuk kultur suspensi, pindahkan semua media ke dalam satu labu T25 untuk mendorong interaksi dan pertumbuhan sel yang efektif.
8. Patuhi protokol subkultur yang telah ditetapkan untuk pertumbuhan dan pemeliharaan garis sel yang berkelanjutan, memastikan hasil eksperimental yang andal.

**Incubation
Atmosphere**

37°C , 5% CO_2 , atmosfer yang dilembapkan.

**Shipping
Conditions**

Lini sel kriopreservasi dikirim di atas es kering dalam kemasan terisolasi yang divalidasi dengan refrigeran yang cukup untuk mempertahankan suhu sekitar -78°C selama perjalanan. Setelah diterima, segera periksa wadah dan pindahkan botol tanpa penundaan ke tempat penyimpanan yang sesuai.

Sel SRA01-04 | 305436

**Storage
Conditions**

Untuk pengawetan jangka panjang, tempatkan botol dalam nitrogen cair fase uap pada suhu sekitar -150 hingga -196 °C. Penyimpanan pada suhu -80 °C hanya dapat diterima sebagai langkah sementara sebelum dipindahkan ke nitrogen cair.

Pengendalian Mutu & Analisis Molekuler

Sterility

Kontaminasi mikoplasma disingkirkan dengan menggunakan tes berbasis PCR dan metode deteksi mikoplasma berbasis pendaran.

Untuk memastikan tidak ada kontaminasi bakteri, jamur, atau ragi, kultur sel menjalani inspeksi visual setiap hari.