

Cellule SRA01-04 | 305436

Informazioni generali

Description

La linea cellulare SRA01/04 è una linea cellulare epiteliale del cristallino umano immortalizzata, sviluppata per superare i limiti associati alle colture primarie di cellule epiteliali del cristallino umano (HLE). Tali limiti includono la loro scarsa capacità proliferativa e la difficoltà di ottenere quantità sufficienti di cellule dai cristallini dei donatori. La linea SRA01/04 è stata derivata da cellule HLE primarie ottenute da neonati sottoposti a intervento chirurgico per la retinopatia del prematuro. L'immortalizzazione è stata ottenuta mediante trasfezione con un plasmide che trasporta il gene dell'antigene T grande di SV40 sotto il controllo del promotore RSV. Questo approccio evita l'uso di virus vivi e consente la selezione di un clone uniforme con caratteristiche costanti.

Le cellule SRA01/04 mostrano una proliferazione stabile per oltre 130 passaggi, con un tasso di raddoppio della popolazione di circa 3,5 per passaggio. Dal punto di vista morfologico, mantengono un monostrato con caratteristiche epiteliali. L'analisi cromosomica ha rivelato un cariotipo ipotetraploide, coerente con lo stato di immortalizzazione. Il fenotipo isoenzimatico ne ha confermato l'origine umana. È importante sottolineare che la linea cellulare conserva caratteristiche molecolari specifiche del cristallino, tra cui l'espressione delle cristalline αA e βB e dell'aldose reduttasi, sebbene a livelli proteici inferiori rispetto a quelli osservati nelle colture primarie di HLE. L'mRNA di entrambe le cristalline è stato rilevato anche tramite RT-PCR e il sequenziamento ha confermato un'identità del 100% con le sequenze umane pubblicate. Ciò rende SRA01/04 la prima linea cellulare del cristallino umano consolidata che abbia dimostrato di esprimere sia le cristalline αA che βB .

Oltre all'espressione delle cristalline, la linea SRA01/04 esprime l'aldose reduttasi, un enzima coinvolto nella via dei polioli, rilevante per la catarattogenesi. Sebbene la crescita ottimale richieda il 20% di siero fetale bovino, le cellule possono sopravvivere e proliferare con livelli ridotti di siero o persino in condizioni prive di siero se preventivamente fissate alle piastre di coltura. Questa adattabilità, insieme al loro fenotipo stabile specifico del cristallino, rende la linea SRA01/04 un modello prezioso per lo studio della fisiologia del cristallino, della regolazione genica nell'epitelio del cristallino e dei meccanismi alla base della formazione della cataratta.

Organism

Umano

Tissue

Occhio, cristallino, epitelio

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)

Caratteristiche

Age

3 mesi

Gender

Uomo

Morphology

Simile all'epitelio

Cell type

Lente oculare

Cellule SRA01-04 | 305436

Growth properties	Aderente
--------------------------	----------

Dati normativi

Citation	SRA01-04 (codice catalogo Cytion 305436)
-----------------	--

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

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

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

GMO Status	GMO-S1: Questa linea cellulare epiteliale del cristallino umano SRA01-04 contiene un costrutto dell'antigene T grande dell'SV40 che consente di condurre ricerche sul cristallino oculare. Questa classificazione è valida solo in Germania e potrebbe differire in altri paesi.
-------------------	--

Dati biomolecolari

Protein expression	Integrazione genetica: Metodo = Trasfezione; Gene = UniProtKB; P03070; Antigene T grande dell'SV40
---------------------------	--

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

Manipolazione

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/L di glucosio, w: 4 mM di L-Glutammina, w: 3,7 g/L di NaHCO ₃ , w: 1,0 mM di piruvato di sodio (articolo Cytion numero 820300a)
-----------------------	---

Supplements	Integrare il terreno di coltura con il 20% di FBS
--------------------	---

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

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

Fluid renewal	2 volte a settimana
----------------------	---------------------

Freeze medium	Come terreno di crioconservazione, utilizziamo un terreno di crescita completo (incluso FBS) + 10% DMSO per un'adeguata vitalità post-scongelo, o CM-1 (numero di catalogo Cytion 800100), che include osmoprotettori e stabilizzatori metabolici ottimizzati per migliorare il recupero e ridurre lo stress crio-indotto.
----------------------	--

Cellule SRA01-04 | 305436

Thawing and Culturing Cells

1. Verificare che la fiala rimanga profondamente congelata al momento della consegna, poiché le cellule vengono spedite con ghiaccio secco per mantenere le temperature ottimali durante il trasporto.
2. Al ricevimento, conservare immediatamente la criovial a temperature inferiori a -150°C per garantire la conservazione dell'integrità cellulare, oppure procedere al punto 3 se è necessaria una coltura immediata.
3. Per la coltura immediata, scongelare rapidamente la fiala immergendola in un bagno d'acqua a 37°C con acqua pulita e un agente antimicrobico, agitando delicatamente per 40-60 secondi finché non rimane un piccolo grumo di ghiaccio.
4. Eseguire tutte le fasi successive in condizioni di sterilità in una cappa a flusso, disinfettando la criovial con etanolo al 70% prima dell'apertura.
5. Aprire con cautela la fiala disinfettata e trasferire la sospensione cellulare in una provetta da centrifuga da 15 ml contenente 8 ml di terreno di coltura a temperatura ambiente, mescolando delicatamente.
6. Centrifugare la miscela a 300 x g per 3 minuti per separare le cellule e scartare con cura il surnatante contenente il terreno di coltura residuo.
7. Risospendere delicatamente il pellet cellulare in 10 ml di terreno di coltura fresco. Per le cellule aderenti, dividere la sospensione tra due fiasche di coltura T25; per le colture in sospensione, trasferire tutto il terreno in una fiasca T25 per promuovere l'interazione e la crescita delle cellule.
8. Attenersi ai protocolli di subcoltura stabiliti per la crescita e il mantenimento continui della linea cellulare, garantendo risultati sperimentali affidabili.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO_2 , atmosfera umidificata.

Shipping Conditions

Le linee cellulari crioconservate vengono spedite su ghiaccio secco in confezioni isolate e convalidate, con una quantità di refrigerante sufficiente a mantenere circa -78 °C durante il trasporto. Al ricevimento, ispezionare immediatamente il contenitore e trasferire immediatamente le fiale in un luogo di conservazione appropriato.

Storage Conditions

Per la conservazione a lungo termine, porre le fiale in azoto liquido in fase vapore a una temperatura compresa tra -150 e -196 °C circa. La conservazione a -80 °C è accettabile solo come breve fase intermedia prima del trasferimento in azoto liquido.

Controllo qualità e analisi molecolare

Cellule SRA01-04 | 305436

Sterility

La contaminazione da micoplasma viene esclusa utilizzando sia saggi basati sulla PCR sia metodi di rilevamento del micoplasma basati sulla luminescenza.

Per garantire l'assenza di contaminazione batterica, fungina o da lieviti, le colture cellulari sono sottoposte a ispezioni visive quotidiane.