

SRA01-04 šūnas | 305436

Vispārīga informācija

Description

Šūnu līnija SRA01/04 ir imortalizēta cilvēka lēcas epitēlija šūnu līnija, kas izstrādāta, lai pārvarētu ierobežojumus, kas saistīti ar cilvēka lēcas epitēlija (HLE) šūnu primārajām kultūrām. Šie ierobežojumi ietver to zemo proliferācijas spēju un grūtības iegūt pietiekamu šūnu daudzumu no donoru lēcām. SRA01/04 tika iegūta no primārām HLE šūnām, kas tika iegūtas no zīdaiņiem, kuriem tika veikta operācija saistībā ar priekšlaicīgas dzimšanas retinopātiju. Nemirstīgumu panāca, veicot transfekciju ar plazmīdu, kas nes SV40 lielā T antigēna gēnu RSV promotora kontrolē. Šī pieeja ļauj izvairīties no dzīva vīrusa izmantošanas un nodrošina vienveidīga klona ar nemainīgām īpašībām atlasī.

SRA01/04 šūnas uzrāda stabilu proliferāciju vairāk nekā 130 pasāžos, ar populācijas dubultošanās līmeni aptuveni 3,5 reizes katrā pasāžā. Morfoloģiski tās saglabā monoslāni ar epitēlija pazīmēm. Hromosomu analīze atklāja hipotetraploīdu kariotipu, kas atbilst nemirstīgajam statusam. Izoenzīmu fenotips apstiprināja to cilvēcisko izcelsmi. Svarīgi, ka šī šūnu līnija saglabā lēcas specifiskas molekulārās īpašības, tostarp α A- un β B-kristalīnu un aldó zreducāzes ekspresiju, lai gan proteīnu līmenis ir zemāks nekā primārajās HLE kultūrās. Ar RT-PCR tika noteikta arī abu kristalīnu mRNA, un sekvencēšana apstiprināja 100 % identitāti ar publicētajām cilvēka sekvencēm. Tas padara SRA01/04 par pirmo izveidoto cilvēka lēcas šūnu līniju, par kuru pierādīts, ka tā ekspresē gan α A-, gan β B-kristalīnus.

Papildus kristalīnu ekspresijai SRA01/04 ekspresē aldó zreduktāzi — fermentu, kas iesaistīts polioliu sintēzes ceļā, kam ir nozīme kataraktas attīstībā. Lai gan optimālai augšanai nepieciešams 20 % teļa seruma, šūnas spēj izdzīvot un vairoties arī ar samazinātu seruma koncentrāciju vai pat bez seruma, ja tās iepriekš ir piestiprinātas pie kultūras traukiem. Šī pielāgošanās spēja kopā ar to stabilo, lēcai raksturīgo fenotipu padara SRA01/04 par vērtīgu modeli lēcas fizioloģijas, gēnu regulācijas lēcas epitēlijā un kataraktas veidošanās pamatā esošo mehānismu pētīšanai.

Organism Cilvēks

Tissue Acs, acs lēca, epitēlijs

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)

Raksturojums

Age 3 mēneši

Gender Virieši

Morphology Epitēlijveidīgs

Cell type Acu lēca

SRA01-04 šūnas | 305436

Growth properties	Adherent
--------------------------	----------

Normatīvie dati

Citation	SRA01-04 (Cytion kataloga numurs 305436)
-----------------	--

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

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

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

GMO Status	GMO-S1: Šī SRA01-04 cilvēka lēcas epitēlija šūnu līnija satur SV40 lielā T-antigēna konstruktu, kas ļauj veikt pētījumus par acs lēcu. Šī klasifikācija ir spēkā tikai Vācijā un citās valstīs tā var atšķirties.
-------------------	---

Biomolekulārie dati

Protein expression	Ģenētiskā integrācija: Metode = transfekcija; Gēns = UniProtKB; P03070; SV40 lielais T antigēns
---------------------------	---

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

Darbs ar

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/l glikozes, w: 4 mM L-glutamīna, w: 3,7 g/l NaHCO ₃ , w: 1,0 mM nātrija piruvāta (Cytion izstrādājuma numurs 820300a)
-----------------------	---

Supplements	Papildināt barotni ar 20% FBS
--------------------	-------------------------------

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

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

Fluid renewal	2 reizes nedēļā
----------------------	-----------------

Freeze medium	Kā kriokonservēšanas barotni mēs izmantojam pilnvērtīgu augšanas barotni (ieskaitot FBS) + 10 % DMSO, lai nodrošinātu pietiekamu dzīvotspēju pēc atkausēšanas, vai CM-1 (Cytion kataloga numurs 800100), kas ietver optimizētus osmoprotektorus un metaboliskos stabilizatorus, lai uzlabotu atveseļošanos un samazinātu krioinducēto stresu.
----------------------	---

SRA01-04 šūnas | 305436**Thawing and
Culturing Cells**

1. Pārliecinieties, ka pēc piegādes flakons paliek dziļi sasaldēts, jo šūnas tiek sūtītas uz sausā ledus, lai pārvadāšanas laikā saglabātu optimālu temperatūru.
2. Pēc saņemšanas vai nu nekavējoties uzglabāt kriovialu temperatūrā, kas zemāka par -150 °C, lai nodrošinātu šūnu integritātes saglabāšanu, vai arī turpināt 3. posmu, ja nepieciešama tūlītēja kultivēšana.
3. Tūlītējas kultivēšanas gadījumā ātri atkausējiet flakonu, iegremdējot to 37°C ūdens vannā ar tīru ūdeni un antibakteriālu līdzekli, viegli maisot 40-60 sekundes, līdz paliek neliels ledus gabaliņš.
4. Visas turpmākās darbības veiciet sterilos apstākļos plūsmas nosūcējā, pirms atvēršanas dezinficējot kriovialu ar 70% etanolu.
5. Uzmanīgi atveriet dezinficēto flakonu un pārnesiet šūnu suspensiju 15 ml centrifūgas mēģenē, kurā ir 8 ml istabas temperatūras barotnes, uzmanīgi samaisot.
6. Centrifugējiet maisījumu ar 300 x g 3 minūtes, lai atdalītu šūnas, un uzmanīgi izmetiet virskārtu, kas satur saldēšanas barotnes atlikumus.
7. Viegli resuspendēt šūnu granulas 10 ml svaigas barotnes. Adhēzijas šūnu gadījumā suspensiju sadalīt divās T25 kolbās; suspensijas kultūrām visu barotni pārnest vienā T25 kolbā, lai veicinātu efektīvu šūnu mijiedarbību un augšanu.
8. Ievērojiet noteiktos subkultūru protokolus, lai nodrošinātu nepārtrauktu šūnu līnijas augšanu un uzturēšanu, tādējādi nodrošinot uzticamus eksperimentu rezultātus.

**Incubation
Atmosphere**

37°C, 5% CO_2 , mitrināta atmosfēra.

**Shipping
Conditions**

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidruma daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

**Storage
Conditions**

Ilgstošai uzglabāšanai flakonus ievietojiet šķidrā slāpekļī ar tvaika fāzi aptuveni -150 līdz -196 °C temperatūrā. Uzglabāšana -80 °C temperatūrā ir pieļaujama tikai kā īss starpposms pirms pārvietošanas uz šķidro slāpekli.

Kvalitātes kontrole un molekulārā analīze

SRA01-04 šūnas | 305436

Sterility

Mikoplazmas piesārņojums tiek izslēgts, izmantojot gan uz PCR balstītus testus, gan uz luminiscenci balstītas mikoplazmas noteikšanas metodes.

Lai pārliecinātos, ka nav baktēriju, sēnīšu vai rauga piesārņojuma, šūnu kultūras katru dienu vizuāli pārbauda.