

SRA01-04-celler | 305436

Generell informasjon

Description

SRA01/04-cellelinjen er en immortalisert human linseepitelcellelinje som er utviklet for å overvinne begrensningene knyttet til primærkulturer av humane linseepitelceller (HLE-celler). Disse begrensningene omfatter deres lave proliferasjonsevne og vanskeligheten med å skaffe tilstrekkelige mengder celler fra donorlinser. SRA01/04 ble utviklet fra primære HLE-celler hentet fra spedbarn som gjennomgikk kirurgi for retinopati hos premature. Immortaliseringen ble oppnådd ved transfeksjon med et plasmid som bærer genet for det store T-antigenet fra SV40, under kontroll av RSV-promotoren. Denne tilnærmingen unngår bruk av levende virus og muliggjør seleksjon av en ensartet klon med konsistente egenskaper.

SRA01/04-cellene viser stabil proliferasjon over 130 passasjer med en populasjonsdoblingsfrekvens på omtrent 3,5 per passasje. Morfologisk opprettholder de et monolag med epiteliale egenskaper. Kromosomanalyse avdekket en hypotetraploid karyotype, noe som stemmer overens med en immortalisert status. Isozymfenotypen bekreftet deres menneskelige opprinnelse. Det er viktig å merke seg at cellelinjen beholder linsespesifikke molekulære trekk, inkludert uttrykk av α A- og β B-krystalliner og aldosereduktase, om enn på lavere proteinnivåer enn det som er observert i primære HLE-kulturer. mRNA for begge krystallinene ble også påvist ved hjelp av RT-PCR, og sekvensering bekreftet 100 % identitet med publiserte humane sekvenser. Dette gjør SRA01/04 til den første etablerte humane linsecellelinjen som har vist seg å uttrykke både α A- og β B-krystalliner.

I tillegg til krystallinuttrykk uttrykker SRA01/04 aldosereduktase, et enzym som er involvert i polyolveien, noe som er relevant for kataraktdannelse. Selv om optimal vekst krever 20 % føtalt bovint serum, kan cellene overleve og formere seg med reduserte serumnivåer eller til og med under serumfrie forhold dersom de er forhåndsfestet til dyrkingsskåler. Denne tilpasningsevnen, sammen med deres stabile linse-spesifikke fenotype, gjør SRA01/04 til en verdifull modell for å studere linsefysiologi, genregulering i linseepitelet og mekanismer som ligger til grunn for kataraktdannelse.

Organism

Menneskelig

Tissue

Øye, øyelinser, 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)

Kjennetegn

Age

3 måneder

Gender

Mann

Morphology

Epitel-lignende

Cell type

Øyelinser

SRA01-04-celler | 305436

Growth properties

Vedhengende

Regulatoriske data

Citation

SRA01-04 (Cytion-katalognummer 305436)

Biosafety level

1

NCBI_TaxID

9606

CellosaurusAccession

CVCL_7157

GMO Status

GMO-S1: Denne SRA01-04-epitelcellelinjen fra menneskelig linse inneholder et SV40-konstrukt med det store T-antigenet, som muliggjør forskning på øyelinsen. Denne klassifiseringen gjelder kun i Tyskland og kan være annerledes andre steder.

Biomolekylære data

Protein expression

Genetisk integrasjon: Metode=Transfeksjon; Gen=UniProtKB; P03070; SV40 stort T-antigen

Isoenzymes

LD, NP

Håndtering

Culture Medium

DMEM, m: 4,5 g/L glukose, m: 4 mM L-glutamin, m: 3,7 g/L NaHCO₃, m: 1,0 mM natriumpyruvat (Cytion artikkelnummer 820300a)

Supplements

Suppler mediet med 20 % FBS

Dissociation Reagent

Accutase

Seeding density

 $2-4 \cdot 10^4 / \text{cm}^2$

Fluid renewal

2 ganger per uke

Freeze medium

Som kryopreserveringsmedium bruker vi komplett vekstmedium (inkludert FBS) + 10 % DMSO for tilstrekkelig levedyktighet etter opptining, eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som inneholder optimaliserte osmobeskyttende midler og metabolske stabilisatorer for å øke utvinningen og redusere kryoinduisert stress.

SRA01-04-celler | 305436

Thawing and Culturing Cells

1. Kontroller at hetteglasset er dypfrost ved levering, ettersom cellene sendes på tørris for å opprettholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved mottak skal hetteglasset enten oppbevares umiddelbart ved temperaturer under -150°C for å sikre at cellenes integritet bevares, eller gå videre til trinn 3 hvis umiddelbar dyrking er nødvendig.
3. Ved umiddelbar dyrking tiner du hetteglasset raskt ved å senke det ned i et 37°C varmt vannbad med rent vann og et antimikrobielt middel, og røre forsiktig i 40-60 sekunder til det blir en liten isklump igjen.
4. Utfør alle påfølgende trinn under sterile forhold i en strømningshette, og desinfiser kryoflasken med 70 % etanol før du åpner den.
5. Åpne det desinfiserte hetteglasset forsiktig, og overfør cellesuspensjonen til et 15 ml sentrifugerør som inneholder 8 ml romtemperert dyrkingsmedium, og bland forsiktig.
6. Sentrifuger blandingen ved $300 \times g$ i 3 minutter for å separere cellene, og kast supernatanten som inneholder rester av frysemedium, forsiktig.
7. Resuspender cellepelletten forsiktig i 10 ml nytt dyrkningsmedium. For adherente celler, del suspensjonen mellom to T25-kulturkolber; for suspensjonskulturer, overfør alt mediet til én T25-kolbe for å fremme effektiv celleinteraksjon og vekst.
8. Følg etablerte subkulturprotokoller for fortsatt vekst og vedlikehold av cellelinjen, noe som sikrer pålitelige eksperimentelle resultater.

Incubation Atmosphere

37°C , 5 % CO_2 , befuktet atmosfære.

Shipping Conditions

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca. -78°C under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

Storage Conditions

For langtidsoppbevaring plasseres hetteglassene i flytende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196°C . Lagring ved -80°C er kun akseptabelt som et kort mellomtrinn før overføring til flytende nitrogen.

Kvalitetskontroll og molekyllær analyse

SRA01-04-celler | 305436

Sterility

Mykoplasma-kontaminering utelukkes ved hjelp av både PCR-baserte analyser og luminescensbaserte metoder for påvisning av mykoplasma.

For å sikre at det ikke finnes bakterie-, sopp- eller gjærkontaminering, blir cellekulturene inspisert visuelt hver dag.