

Celulele SRA01-04 | 305436

Informații generale

Description

Linia celulară SRA01/04 este o linie celulară epitelială a cristalinului uman imortalizată, dezvoltată pentru a depăși limitările asociate culturilor primare de celule epiteliale ale cristalinului uman (HLE). Printre aceste limitări se numără capacitatea lor redusă de proliferare și dificultatea de a obține cantități suficiente de celule din cristalinele donatorilor. SRA01/04 a fost derivată din celule HLE primare obținute de la sugari supuși unei intervenții chirurgicale pentru retinopatia prematurilor. Imortalizarea a fost realizată prin transfecție cu un plasmid care poartă gena antigenului T mare al SV40 sub controlul promotorului RSV. Această abordare evită utilizarea virusului viu și permite selectarea unui clon uniform cu caracteristici constante.

Celulele SRA01/04 prezintă o proliferare stabilă pe parcursul a 130 de pasaje, cu un nivel de dublare a populației de aproximativ 3,5 pe pasaj. Din punct de vedere morfologic, acestea mențin un monostrat cu caracteristici epiteliale. Analiza cromozomială a relevat un cariotip hipotetraploid, compatibil cu statutul de imortalizare. Fenotipul izoenzimatic a confirmat originea lor umană. Un aspect important este faptul că linia celulară păstrează trăsături moleculare specifice cristalinului, inclusiv expresia cristalinei α A și β B și a aldoreductazei, deși la niveluri proteice mai scăzute decât cele observate în culturile primare de HLE. ARNm-ul pentru ambele cristaline a fost, de asemenea, detectat prin RT-PCR, iar secvențierea a confirmat o identitate de 100% cu secvențele umane publicate. Acest lucru face ca SRA01/04 să fie prima linie celulară umană a cristalinului stabilită despre care s-a demonstrat că exprimă atât cristalina α A, cât și cristalina β B.

Pe lângă expresia cristalinei, SRA01/04 exprimă aldoreductaza, o enzimă implicată în calea poliolor, care este relevantă pentru cataractogeneză. Deși creșterea optimă necesită 20% ser fetal bovin, celulele pot supraviețui și prolifera cu niveluri reduse de ser sau chiar în condiții fără ser, dacă sunt atașate în prealabil la vasele de cultură. Această adaptabilitate, împreună cu fenotipul lor stabil specific cristalinului, face din SRA01/04 un model valoros pentru studierea fiziologiei cristalinului, a reglării genice în epiteliul cristalinului și a mecanismelor care stau la baza formării cataractei.

Organism

Om

Tissue

Ochi, cristalin, epiteliu

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)

Caracteristici

Age

3 luni

Gender

Masculin

Morphology

De tip epitelial

Cell type

Lentilă oculară

Celulele SRA01-04 | 305436

Growth properties	Aderent
--------------------------	---------

Date de reglementare

Citation	SRA01-04 (număr de catalog Cytion 305436)
-----------------	---

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

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

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

GMO Status	GMO-S1: Această linie celulară epitelială a cristalinului uman SRA01-04 conține un construct al antigenului T mare al virusului SV40, care permite efectuarea de cercetări asupra cristalinului ocular. Această clasificare se aplică numai pe teritoriul Germaniei și poate diferi în alte țări.
-------------------	---

Date biomoleculare

Protein expression	Integrare genetică: Metodă = Transfecție; Genă = UniProtKB; P03070; Antigenul T mare al virusului SV40
---------------------------	--

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

Manipulare

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/L glucoză, w: 4 mM L-glutamină, w: 3,7 g/L NaHCO ₃ , w: 1,0 mM piruvat de sodiu (număr articol Cytion 820300a)
-----------------------	--

Supplements	Suplimentați mediul cu 20% FBS
--------------------	--------------------------------

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

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

Fluid renewal	de 2 ori pe săptămână
----------------------	-----------------------

Freeze medium	Ca mediu de crioconservare, folosim mediu de creștere complet (inclusiv FBS) + 10% DMSO pentru o viabilitate adecvată după dezghețare sau CM-1 (număr de catalog Cytion 800100), care include osmoprotectanți optimizați și stabilizatori metabolici pentru a spori recuperarea și a reduce stresul indus de criogenie.
----------------------	---

Celulele SRA01-04 | 305436

Thawing and Culturing Cells

1. Confirmați că flaconul rămâne profund înghețat la livrare, deoarece celulele sunt expediate pe gheață carbonică pentru a menține temperaturi optime în timpul transportului.
2. La primire, fie depozitați crioviola imediat la temperaturi sub -150 °C pentru a asigura păstrarea integrității celulare, fie treceți la etapa 3 dacă este necesară cultivarea imediată.
3. Pentru cultivarea imediată, dezghețați rapid flaconul prin scufundarea acestuia într-o baie de apă la 37 °C cu apă curată și un agent antimicrobian, agitându-l ușor timp de 40-60 de secunde până când rămâne o mică aglomerare de gheață.
4. Se efectuează toate etapele ulterioare în condiții sterile, într-o hotă cu flux, dezinfectând crioviola cu etanol 70% înainte de deschidere.
5. Se deschide cu grijă flaconul dezinfectat și se transferă suspensia celulară într-un tub de centrifugare de 15 ml care conține 8 ml de mediu de cultură la temperatura camerei, amestecând ușor.
6. Se centrifughează amestecul la 300 x g timp de 3 minute pentru a separa celulele și se aruncă cu grijă supernatantul care conține mediul de congelare rezidual.
7. Se resuspendă ușor peletul celular în 10 ml de mediu de cultură proaspăt. Pentru celulele aderente, împărțiți suspensia între două flacoane de cultură T25; pentru culturile în suspensie, transferați tot mediul într-un flacon T25 pentru a promova interacțiunea și creșterea celulară eficientă.
8. Respectați protocoalele de subcultură stabilite pentru creșterea și menținerea continuă a liniei celulare, asigurând rezultate experimentale fiabile.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO_2 , atmosferă umidificată.

Shipping Conditions

Liniile celulare crioconservate sunt expediate pe gheață carbonică în ambalaje izolate, validate, cu suficient agent frigorific pentru a menține aproximativ -78 °C pe toată durata transportului. La primire, se inspectează imediat recipientul și se transferă fără întârziere fiolele în depozitul corespunzător.

Storage Conditions

Pentru conservarea pe termen lung, flacoanele se plasează în azot lichid în fază de vapori la o temperatură cuprinsă între -150 și -196 °C. Păstrarea la -80 °C este acceptabilă doar ca o scurtă etapă intermediară înainte de transferul în azot lichid.

Controlul calității și analiza moleculară

Celulele SRA01-04 | 305436

Sterility

Contaminarea cu micoplasmă este exclusă utilizând atât teste bazate pe PCR, cât și metode de detectare a micoplasmei bazate pe luminescență.

Pentru a se asigura că nu există contaminare bacteriană, fungică sau de drojdie, culturile celulare sunt supuse unor inspecții vizuale zilnice.