

SRA01-04-celler | 305436

Allmän information

Description

Cellinjen SRA01/04 är en odödliggjord human lins-epitelcellinje som utvecklats för att övervinna de begränsningar som är förknippade med primärkulturer av humana lins-epitelceller (HLE-celler). Dessa begränsningar omfattar deras låga förökningsförmåga och svårigheten att erhålla tillräckliga mängder celler från donatorlinser. SRA01/04 härstammar från primära HLE-celler som erhållits från spädbarn som genomgått operation för prematuritetsretinopati. Immortaliseringen uppnåddes genom transfektion med en plasmid som bär genen för SV40:s stora T-antigen under kontroll av RSV-promotorn. Denna metod undviker användning av levande virus och möjliggör selektion av en enhetlig klon med konsekventa egenskaper.

SRA01/04-celler uppvisar stabil proliferation över 130 passager med en populationsfördubbling på cirka 3,5 per passage. Morfologiskt sett bibehåller de ett monolager med epiteliala egenskaper. Kromosomanalys visade en hypotetraploid karyotyp, vilket stämmer överens med ett odödligt tillstånd. Isozymfenotypen bekräftade deras mänskliga ursprung. Viktigt att notera är att cellinjen behåller linsspecifika molekyllära egenskaper, inklusive uttryck av α A- och β B-kristalliner samt aldoseduktas, om än vid lägre proteinnivåer än vad som observerats i primära HLE-odlingar. mRNA för båda kristallinerna detekterades också via RT-PCR, och sekvensering bekräftade 100 % identitet med publicerade humana sekvenser. Detta gör SRA01/04 till den första etablerade humana linscellinjen som visat sig uttrycka både α A- och β B-kristalliner.

Utöver uttrycket av kristalliner uttrycker SRA01/04 även aldoseduktas, ett enzym som ingår i polyolvägen, vilket är relevant för kataraktbildning. Även om optimal tillväxt kräver 20 % fetalt bovint serum kan cellerna överleva och föröka sig med reducerade serumnivåer eller till och med under serumfria förhållanden om de först fästs vid odlingsskålar. Denna anpassningsförmåga, tillsammans med deras stabila linsspecifika fenotyp, gör SRA01/04 till en värdefull modell för att studera linsens fysiologi, genreglering i linsepitelet och mekanismerna bakom kataraktbildning.

Organism

Människan

Tissue

Öga, ögonlins, 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)

Egenskaper

Age

3 månader

Gender

Man

Morphology

Epitelliknande

Cell type

Ögonlins

SRA01-04-celler | 305436

Growth properties	Följsam
--------------------------	---------

Lagstadgade uppgifter

Citation	SRA01-04 (Cytion-katalognummer 305436)
-----------------	--

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

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

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

GMO Status	GMO-S1: Denna SRA01-04-cellinje från mänskligt lins-epitel innehåller en konstruktion av SV40:s stora T-antigen, vilket möjliggör forskning på ögonlinsen. Denna klassificering gäller endast inom Tyskland och kan skilja sig åt i andra länder.
-------------------	---

Biomolekylära data

Protein expression	Genetisk integration: Metod=transfektion; Gen=UniProtKB; P03070; SV40:s stora T-antigen
---------------------------	---

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

Hantering

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/L glukos, w: 4 mM L-glutamin, w: 3,7 g/L NaHCO ₃ , w: 1,0 mM natriumpyruvat (Cytion artikelnummer 820300a)
-----------------------	--

Supplements	Komplettera mediet med 20% FBS
--------------------	--------------------------------

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

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

Fluid renewal	2 gånger per vecka
----------------------	--------------------

SRA01-04-celler | 305436

Freeze medium

Som kryokonserveringsmedium använder vi komplett tillväxtmedium (inklusive FBS) + 10% DMSO för adekvat viabilitet efter upptining, eller CM-1 (Cytion katalognummer 800100), som innehåller optimerade osmoprotektanter och metaboliska stabilisatorer för att förbättra återhämtningen och minska kryoinducerad stress.

Thawing and Culturing Cells

1. Bekräfta att flaskan är djupfryst vid leverans, eftersom cellerna skickas på torris för att bibehålla optimala temperaturer under transporten.
2. Vid mottagandet ska du antingen förvara kryovialen omedelbart vid temperaturer under -150 °C för att säkerställa att cellernas integritet bevaras, eller gå vidare till steg 3 om omedelbar odling krävs.
3. Vid omedelbar odling ska injektionsflaskan snabbt tinas genom att den sänks ned i ett 37 °C vattenbad med rent vatten och ett antimikrobiellt medel och omrörs försiktigt i 40-60 sekunder tills en liten isklump återstår.
4. Utför alla efterföljande steg under sterila förhållanden i en flödesbänk och desinficera kryovialerna med 70 % etanol innan de öppnas.
5. Öppna försiktigt den desinficerade flaskan och överför cellsuspensionen till ett 15 ml centrifugrör som innehåller 8 ml rumstempererat odlingsmedium och blanda försiktigt.
6. Centrifugera blandningen vid 300 x g i 3 minuter för att separera cellerna och kassera försiktigt supernatanten som innehåller resterande frysmedium.
7. Resuspendera försiktigt cellpelleten i 10 ml färskt odlingsmedium. För adherenta celler, fördela suspensionen mellan två T25-kulturbelägg; för suspensionskulturer, överför allt medium till en T25-kolv för att främja effektiv cellinteraktion och tillväxt.
8. Följ fastställda subkulturprotokoll för fortsatt tillväxt och underhåll av cellinjen, vilket säkerställer tillförlitliga experimentella resultat.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO_2 , befuktad atmosfär.

Shipping Conditions

Kryopreserverade cellinjer skickas på torris i validerade, isolerade förpackningar med tillräckligt med kylmedel för att hålla cirka -78 °C under hela transporten. Vid mottagandet ska behållaren omedelbart inspekteras och flaskorna utan dröjsmål överföras till lämplig förvaring.

SRA01-04-celler | 305436

**Storage
Conditions**

För långtidsförvaring, placera flaskorna i flytande kväve i ångfas vid ca -150 till -196 °C. Förvaring vid -80 °C är acceptabelt endast som ett kort mellanliggande steg innan överföring till flytande kväve.

Kvalitetskontroll och molekylär analys

Sterility

Mykoplasmakontaminering utesluts med hjälp av både PCR-baserade analyser och luminiscensbaserade metoder för mykoplasmadiagnostik.

För att säkerställa att det inte finns någon kontaminering av bakterier, svamp eller jäst utsätts cellkulturerna för dagliga visuella inspektioner.