

SRA01-04 Bunky | 305436

Všeobecné informácie

Description

Bunka SRA01/04 je immortalizovaná bunka epitelu ľudskej šošovky, ktorá bola vyvinutá s cieľom prekonať obmedzenia spojené s primárnymi kultúrami buniek epitelu ľudskej šošovky (HLE). Medzi tieto obmedzenia patrí ich nízka schopnosť proliferácie a ťažkosti so získaním dostatočného množstva buniek z darcovských šošoviek. SRA01/04 bola odvodená z primárnych HLE buniek získaných od dojčiat podstupujúcich operáciu pre retinopatiu predčasne narodených detí. Immortalizácia bola dosiahnutá transfekciou plazmidom nesúcim gén veľkého T-antigénu vírusu SV40 pod kontrolou promotora RSV. Tento prístup vylučuje použitie živého vírusu a umožňuje selekciu jednotného klonu s konzistentnými charakteristikami.

Bunky SRA01/04 vykazujú stabilnú proliferáciu počas viac ako 130 pasáží s úrovňou zdvojnásobenia populácie približne 3,5 na pasáž. Morfologicky si zachovávajú monovrstvu s epiteliálnymi charakteristikami. Chromozómová analýza odhalila hypotetraploidný karyotyp, čo zodpovedá immortalizovanému stavu. Fenotyp izoenzymov potvrdil ich ľudský pôvod. Dôležité je, že bunková línia si zachováva molekulárne charakteristiky špecifické pre šošovku, vrátane expresie α A- a β B-kryštálinov a aldózreduktázy, hoci na nižších proteínových hladinách, ako sa pozoruje v primárnych kultúrach HLE. mRNA pre oba kryštáliny bola tiež detekovaná pomocou RT-PCR a sekvenovanie potvrdilo 100 % zhodu s publikovanými ľudskými sekvenciami. Vďaka tomu je SRA01/04 prvou etablovanou ľudskou bunkovou líniou šošovky, u ktorej bolo preukázané, že exprimuje kryštáliny α A aj β B.

Okrem expresie kryštálinov exprimuje SRA01/04 aj aldózreduktázu, enzým zapojený do polyolovej dráhy, ktorá súvisí s patogenézou katarakty. Hoci optimálny rast vyžaduje 20 % fetálneho bovinného séra, bunky môžu prežiť a množiť sa aj pri znížených hladinách séra alebo dokonca v bezsérových podmienkach, ak sú vopred pripevnené k kultivačným miskám. Táto adaptabilita spolu s ich stabilným fenotypom špecifickým pre šošovku robí z SRA01/04 cenný model na štúdium fyziológie šošovky, regulácie génov v epitelu šošovky a mechanizmov, ktoré sú základom tvorby katarakty.

Organism

Ľudské

Tissue

Oko, očná šošovka, 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)

Charakteristika

Age

3 mesiace

Gender

Muži

Morphology

Epitelu podobné

Cell type

Očná šošovka

SRA01-04 Bunky | 305436

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

Regulačné údaje

Citation	SRA01-04 (katalógové číslo Cytion 305436)
-----------------	---

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

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

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

GMO Status	GMO-S1: Táto ľudská epitelová bunka šošovky SRA01-04 obsahuje konštrukt veľkého T-antigénu vírusu SV40, ktorý umožňuje výskum očnej šošovky. Táto klasifikácia platí iba v Nemecku a v iných krajinách sa môže líšiť.
-------------------	---

Biomolekulárne údaje

Protein expression	Genetická integrácia: Metóda = transfekcia; Gén = UniProtKB; P03070; veľký T-antigén vírusu SV40
---------------------------	--

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

Spracovanie

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/l glukózy, w: 4 mM L-glutamínu, w: 3,7 g/l NaHCO ₃ , w: 1,0 mM pyruvátu sodného (číslo výrobku Cytion 820300a)
-----------------------	--

Supplements	Doplňte médium o 20 % FBS
--------------------	---------------------------

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

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

Fluid renewal	2 krát týždenne
----------------------	-----------------

SRA01-04 Bunky | 305436

Freeze medium

Ako kryokonzervačné médium používame kompletne rastové médium (vrátane FBS) + 10 % DMSO na zabezpečenie primeranej životaschopnosti po rozmrazení alebo CM-1 (katalógové číslo 800100 spoločnosti Cytion), ktoré obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory na zlepšenie obnovy a zníženie stresu spôsobeného kryom.

Thawing and Culturing Cells

1. Overte si, že injekčná liekovka zostane pri doručení hlboko zmrazená, pretože bunky sa prepravujú na suchom ľade, aby sa počas prepravy udržala optimálna teplota.
2. Po prijatí buď okamžite uskladnite kryovialku pri teplote nižšej ako -150 °C, aby ste zabezpečili zachovanie bunkovej integrity, alebo prejdite na krok 3, ak je potrebná okamžitá kultivácia.
3. V prípade okamžitej kultivácie injekčnú liekovku rýchlo rozmrazte ponorením do vodného kúpeľa s teplotou 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálnym prostriedkom, pričom ju jemne miešajte 40 - 60 sekúnd, kým nezostane malý ľadový chumáč.
4. Všetky ďalšie kroky vykonajte v sterilných podmienkach v prietokovom digestore a pred otvorením kryovialku dezinfikujte 70 % etanolom.
5. Opatrne otvorte dezinfikovanú fľaštičku a preneste bunkovú suspenziu do 15 ml centrifugačnej skúmavky obsahujúcej 8 ml kultivačného média s izbovou teplotou a jemne premiešajte.
6. Zmes odstreďujte pri 300 x g počas 3 minút, aby sa bunky oddelili, a opatrne zlikvidujte supernatant obsahujúci zvyšky zmrazovacieho média.
7. Pelet buniek jemne resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačného média. V prípade adherentných buniek rozdeľte suspenziu medzi dve kultivačné banky T25; v prípade suspenzných kultúr preneste všetko médium do jednej banky T25, aby ste podporili účinnú interakciu a rast buniek.
8. Dodržiavajte zavedené subkultivačné protokoly na nepretržitý rast a udržiavanie bunkovej línie, čím sa zabezpečia spoľahlivé výsledky experimentov.

Incubation Atmosphere

37 °C, 5 % CO_2 , zvlhčená atmosféra.

Shipping Conditions

Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne -78 °C počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

SRA01-04 Bunky | 305436

Storage Conditions

Na dlhodobé uchovávanie umiestnite injekčné liekovky do kvapalnej fázy dusíka v pare pri teplote približne -150 až -196 °C. Skladovanie pri teplote -80 °C je prijateľné len ako krátky prechodný krok pred presunom do tekutého dusíka.

Kontrola kvality a molekulárna analýza

Sterility

Kontaminácia mykoplazmami sa vylučuje pomocou testov založených na PCR a metód detekcie mykoplazmiem založených na luminiscencii.

Aby sa zabezpečilo, že nedošlo ku kontaminácii baktériami, hubami alebo kvasinkami, bunkové kultúry sa denne vizuálne kontrolujú.