

Celice SRA01-04 | 305436

Splošne informacije

Description

Celična linija SRA01/04 je immortalizirana linija človeških epitelnih celic leče, razvita z namenom premagovanja omejitev, povezanih s primarnimi kulturami človeških epitelnih celic leče (HLE). Te omejitve vključujejo njihovo nizko sposobnost razmnoževanja ter težave pri pridobivanju zadostnih količin celic iz leč darovalcev. Linija SRA01/04 izhaja iz primarnih HLE-celic, pridobljenih iz dojenčkov, ki so se podrgli operaciji zaradi retinopatije prezgodaj rojenih otrok. Nesmrtnost je bila dosežena s transfekcijo s plazmidom, ki nosi gen za velik T-antigen SV40 pod nadzorom promotorja RSV. Ta pristop preprečuje uporabo živega virusa in omogoča selekcijo enotnega klona z doslednimi lastnostmi.

Celice SRA01/04 kažejo stabilno proliferacijo skozi več kot 130 pasaz, s stopnjo podvojevanja populacije približno 3,5 na pasaz. Morfološko ohranjajo monosloj z epiteljskimi značilnostmi. Kromosomska analiza je razkrila hipotetraploidni kariotip, kar je skladno z immortaliziranim statusom. Fenotip izoenzimov je potrdil njihov človeški izvor. Pomembno je, da celična linija ohranja molekularne značilnosti, specifične za lečo, vključno z izražanjem α A- in β B-kristalinov ter aldoseduktaze, čeprav na nižjih ravneh beljakovin kot v primarnih kulturah HLE. mRNA za oba kristalina je bila prav tako zaznana z metodo RT-PCR, sekvenciranje pa je potrdilo 100-odstotno identiteto z objavljenimi človeškimi sekvencami. S tem je SRA01/04 prva vzpostavljena človeška linija lečnih celic, za katero je bilo dokazano, da izraža tako α A- kot tudi β B-kristaline.

Poleg ekspresije kristalina linija SRA01/04 izraža tudi aldoso reduktazo, encim, vpleten v poliolno pot, ki je pomembna za nastanek katarakte. Čeprav za optimalno rast potrebujejo 20 % fetalnega govejega seruma, lahko celice preživijo in se razmnožujejo tudi pri zmanjšanih koncentracijah seruma ali celo v brezserumskih pogojih, če so predhodno pritrjene na kultivacijske posode. Ta prilagodljivost, skupaj z njihovim stabilnim fenotipom, značilnim za lečo, naredi linijo SRA01/04 dragocen model za preučevanje fiziologije leče, genetske regulacije v epitelu leče ter mehanizmov, ki so osnova za nastanek katarakte.

Organism Človek

Tissue Oko, očesna leča, 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)

Značilnosti

Age 3 mesece

Gender Moški

Morphology Epitelijam podobni

Cell type Očesna leča

Celice SRA01-04 | 305436

Growth properties

Pripadajoče

Regulativni podatki

Citation

SRA01-04 (katalogska številka Cytion 305436)

Biosafety level

1

NCBI_TaxID

9606

CellosaurusAccession

CVCL_7157

GMO Status

GMO-S1: Ta linija človeškega epitelija očesne leče SRA01-04 vsebuje konstrukt velikega T-antigena SV40, ki omogoča raziskave očesne leče. Ta klasifikacija velja le v Nemčiji in se drugod lahko razlikuje.

Biomolekularni podatki

Protein expression

Genetska integracija: Metoda = transfekcija; Gen = UniProtKB; P03070; velik T-antigen SV40

Isoenzymes

LD, NP

Ravnanje s spletno stranjo

Culture Medium

DMEM, w: 4,5 g/L glukoze, w: 4 mM L-glutamina, w: 3,7 g/L NaHCO₃, w: 1,0 mM natrijevega piruvata (številka izdelka Cytion 820300a)

Supplements

Gojišče dopolnite z 20 % FBS

Dissociation Reagent

Accutase

Seeding density

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

Fluid renewal

2-krat na teden

Freeze medium

Kot gojišče za kriokonzervacijo uporabljamo popolno rastno gojišče (vključno s FBS) + 10 % DMSO za ustrezno vitalnost po odmrznitvi ali CM-1 (katalogska številka 800100 podjetja Cytion), ki vključuje optimizirane osmoprotektante in presnovne stabilizatorje za izboljšanje okrevanja in zmanjšanje stresa, povzročenega s kriom.

Celice SRA01-04 | 305436

Thawing and Culturing Cells

1. Prepričajte se, da je viala ob dostavi globoko zamrznjena, saj se celice pošiljajo na suhem ledu, da se med prevozom ohranijo optimalne temperature.
2. Po prejemu kriovial takoj shranite pri temperaturi pod -150°C , da zagotovite ohranitev celične celovitosti, ali pa nadaljujte s korakom 3, če je potrebno takojšnje gojenje.
3. Za takojšnje gojenje vialo hitro odtalite tako, da jo potopite v vodno kopel s čisto vodo in protimikrobnim sredstvom pri 37°C ter 40-60 sekund nežno mešate, dokler ne ostane majhen ledeni kepica.
4. Vse nadaljnje korake izvajajte v sterilnih pogojih v pretočni nape, pred odprtjem pa kriovial razkužite s 70 % etanolom.
5. Previdno odprite razkuženo vialo in celično suspenzijo prenesite v 15-mililitrsko centrifugirno epruveto, ki vsebuje 8 ml gojišča sobne temperature, ter nežno premešajte.
6. Mešanico centrifugirajte pri $300 \times g$ 3 minute, da ločite celice, in previdno zavržite supernatant, ki vsebuje ostanke zamrzovalnega gojišča.
7. Pelet celic nežno ponovno suspendirajte v 10 ml svežega gojišča. Pri adherentnih celicah suspenzijo razdelite med dve bučki T25; pri suspenzijskih kulturah prenesite vse gojišče v eno bučko T25, da spodbudite učinkovito interakcijo in rast celic.
8. Upoštevajte uveljavljene protokole subkultur za nadaljnjo rast in vzdrževanje celične linije ter tako zagotovite zanesljive rezultate poskusov.

Incubation Atmosphere

37°C , 5 % CO_2 , vlažno ozračje.

Shipping Conditions

Kriokonzervirane celične linije se pošiljajo na suhem ledu v potrjeni, izolirani embalaži z zadostno količino hladilnega sredstva, da se med prevozom vzdržuje približno -78°C . Ob prejemu takoj preglejte embalažo in vialo nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.

Storage Conditions

Za dolgotrajno shranjevanje vial postavite v tekoči dušik v parni fazi pri približno -150 do -196°C . Shranjevanje pri -80°C je sprejemljivo le kot kratek vmesni korak pred prenosom v tekoči dušik.

Kontrola kakovosti in molekularna analiza

Celice SRA01-04 | 305436

Sterility

Kontaminacija z mikoplazmo se izključi z uporabo testov na podlagi PCR in metod za odkrivanje mikoplazme na podlagi luminiscence.

Da se zagotovi, da ni kontaminacije z bakterijami, glivami ali kvasovkami, se celične kulture dnevno vizualno pregledujejo.