

SRA01-04 Hücreleri | 305436

Genel bilgi

Description

SRA01/04 hücre hattı, insan lens epitel (HLE) hücrelerinin birincil kültürleriyle ilişkili sınırlamaları aşmak amacıyla geliştirilmiş, ölümsüzleştirilmiş bir insan lens epitel hücre hattıdır. Bu sınırlamalar arasında, hücrelerin düşük çoğalma kapasitesi ve donör lenslerden yeterli miktarda hücre elde etmedeki zorluk yer almaktadır. SRA01/04, prematüre retinopatisi nedeniyle ameliyat geçiren bebeklerden elde edilen birincil HLE hücrelerinden türetilmiştir. Ölümsüzleştirme, RSV promotörünün kontrolü altında SV40 büyük T antijeni genini taşıyan bir plazmid ile transfeksiyon yoluyla gerçekleştirilmiştir. Bu yaklaşım, canlı virüs kullanımını ortadan kaldırır ve tutarlı özelliklere sahip tek tip bir klonun seçilmesine olanak tanır.

SRA01/04 hücreleri, pasaj başına yaklaşık 3,5'lik bir popülasyon ikiye katlanma seviyesi ile 130'dan fazla pasaj boyunca istikrarlı bir proliferasyon sergilemektedir. Morfolojik olarak, epitelyal özelliklere sahip tek tabakalı bir yapılarını korumaktadırlar. Kromozomal analiz, ölümsüzleştirilmiş durumla tutarlı bir hipotetraploid karyotip ortaya koymuştur. İzoenzim fenotipi, hücrelerin insan kökenli olduğunu doğrulamıştır. Önemli bir nokta olarak, hücre hattı, birincil HLE kültürlerinde görülen protein seviyelerinden daha düşük olmakla birlikte, α A ve β B kristalinleri ile aldose redüktazın ekspresyonu dahil olmak üzere lens spesifik moleküler özelliklerini korumaktadır. Her iki kristalinin mRNA'sı da RT-PCR yoluyla tespit edildi ve sekanslama, yayınlanmış insan sekanslarıyla %100 özdeşlik olduğunu doğruladı. Bu durum, SRA01/04'ü hem α A hem de β B kristalinlerini eksprese ettiği gösterilen ilk insan lens hücre hattı yapmaktadır.

Kristalin ekspresyonuna ek olarak, SRA01/04, katarakt oluşumuyla ilişkili olan poliol yolunda rol oynayan bir enzim olan aldose redüktazı da eksprese eder. Optimal büyüme için %20 fetal sıgır serumu gerekli olmakla birlikte, hücreler, serum seviyeleri düşürüldüğünde veya hatta kültür kaplarına önceden yapılandırılmış olmaları durumunda serumsuz koşullarda bile hayatta kalabilir ve çoğalabilir. Bu uyum yeteneği, lens spesifik stabil fenotipiyle birleştiğinde, SRA01/04'ü lens fizyolojisi, lens epitelindeki gen regülasyonu ve katarakt oluşumunun altında yatan mekanizmaların incelenmesi için değerli bir model haline getirmektedir.

Organism

İnsan

Tissue

Göz, göz merceği, 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)

Özellikler

Age

3 ay

Gender

Erkek

Morphology

Epitel benzeri

Cell type

Göz merceği

SRA01-04 Hücreleri | 305436

Growth properties Yapışık

Düzenleyici Veriler

Citation SRA01-04 (Cytion katalog numarası 305436)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_7157

GMO Status GMO-S1: Bu SRA01-04 insan lens epitel hücre hattı, göz merceği araştırmalarına olarak tanıyan bir SV40 büyük T-antijeni konstrüksiyonu içerir. Bu sınıflandırma yalnızca Almanya sınırları içinde geçerlidir ve başka ülkelerde farklılık gösterebilir.

Biyomoleküler Veriler

Protein expression Genetik entegrasyon: Yöntem=Transfeksiyon; Gen=UniProtKB; P03070; SV40 büyük T antijeni

Isoenzymes LD, NP

Elleçleme

Culture Medium DMEM, w: 4,5 g/L Glukoz, w: 4 mM L-Glutamin, w: 3,7 g/L NaHCO₃, w: 1,0 mM Sodyum piruvat (Cytion ürün numarası 820300a)

Supplements Ortamı %20 FBS ile takviye edin

Dissociation Reagent Accutase

Seeding density 2-4*10⁴/cm²

Fluid renewal haftada 2 kez

Freeze medium Kriyoprezervasyon ortamı olarak, yeterli çözülme sonrası canlılık için tam büyüme ortamı (FBS dahil) + %10 DMSO veya iyileşmeyi artırmak ve kriyo-indüklenmiş stresi azaltmak için optimize edilmiş ozmoprotektanlar ve metabolik stabilizatörler içeren CM-1 (Cytion katalog numarası 800100) kullanıyoruz.

SRA01-04 Hücreleri | 305436

Thawing and Culturing Cells

1. Hücreler taşıma sırasında optimum sıcaklıkları korumak için kuru buz üzerinde gönderildiğinden, flakonun teslimat sırasında derin dondurulmuş halde kaldığını teyit edin.
2. Teslim aldıktan sonra, hücresel bütünlüğün korunmasını sağlamak için kriyovialı hemen -150°C'nin altındaki sıcaklıklarda saklayın veya hemen kültürleme gerekiyorsa 3. adıma geçin.
3. Derhal kültürleme için flakonun temiz su ve antimikrobiyal bir madde içeren 37°C'lik bir su banyosuna daldırıp küçük bir buz kümesi kalana kadar 40-60 saniye boyunca hafifçe çalkalayarak hızlıca çözün.
4. Sonraki tüm adımları steril koşullar altında bir akış başlığı içinde gerçekleştirin ve açmadan önce kriyoviyalleri %70 etanol ile dezenfekte edin.
5. Dezenfekte edilmiş flakonun dikkatlice açın ve hücre süspansiyonunu 8 ml oda sıcaklığında kültür ortamı içeren 15 ml'lik bir santrifüj tüpüne aktarın ve hafifçe karıştırın.
6. Hücreleri ayırmak için karışımı 300 x g'de 3 dakika santrifüjleyin ve artık dondurma ortamı içeren süpernatantı dikkatlice atın.
7. Hücre peletini 10 ml taze kültür ortamında yavaşça yeniden süspanse edin. Yapışık hücreler için, süspansiyonu iki T25 kültür şişesi arasında bölün; süspansiyon kültürleri için, etkili hücre etkileşimini ve büyümesini teşvik etmek üzere tüm ortamı tek bir T25 şişesine aktarın.
8. Hücre hattının sürekli büyümesi ve bakımı için belirlenmiş alt kültür protokollerine uyun ve güvenilir deneysel sonuçlar elde edin.

Incubation Atmosphere

37°C, %5_{CO2}, nemlendirilmiş atmosfer.

Shipping Conditions

Kriyoprezerve edilmiş hücre hatları, nakliye boyunca yaklaşık -78 °C'yi korumak için yeterli soğutucu akışkan içeren, onaylanmış, yalıtılmış ambalajlarda kuru buz üzerinde gönderilir. Teslim aldığınızda, kabı hemen inceleyin ve flakonları gecikmeden uygun depoya aktarın.

Storage Conditions

Uzun süreli muhafaza için flakonları yaklaşık -150 ila -196 °C'de buhar fazlı sıvı nitrojen içine yerleştirin. 80 °C'de saklama yalnızca sıvı nitrojene aktarılmadan önce kısa bir ara adım olarak kabul edilebilir.

Kalite Kontrol ve Moleküler Analiz

SRA01-04 Hücreleri | 305436

Sterility

Mikoplazma kontaminasyonu hem PCR tabanlı tahliller hem de lüminesans tabanlı mikoplazma tespit yöntemleri kullanılarak dışlanır.

Bakteriyel, fungal veya maya kontaminasyonu olmadığından emin olmak için hücre kültürleri günlük görsel incelemelere tabi tutulur.