

Клітини SRA01-04 | 305436

Загальна інформація

Description

Клітинна лінія SRA01/04 — це іморталізована лінія епітеліальних клітин кришталика людини, розроблена з метою подолання обмежень, пов'язаних із первинними культурами епітеліальних клітин кришталика людини (HLE). До цих обмежень належать їхня низька проліферативна здатність та складність отримання достатньої кількості клітин із кришталіків донорів. Лінія SRA01/04 була отримана з первинних клітин HLE, взятих у немовлят, яким проводили операцію з приводу ретинопатії недоношених. Імунологічна імунізація була досягнута шляхом трансфекції плазмидою, що несе ген великого Т-антигену SV40 під контролем промотора RSV. Такий підхід дозволяє уникнути використання живого вірусу та забезпечує відбір однорідного клону зі стабільними характеристиками.

Клітини SRA01/04 демонструють стабільну проліферацію протягом 130 пасажів із коефіцієнтом подвоєння популяції приблизно 3,5 на пасаж. Морфологічно вони зберігають моношар з епітеліальними характеристиками. Хромосомний аналіз виявив гіпотетраплоїдний каріотип, що відповідає статусу безсмертності. Фенотип ізоферментів підтвердив їхнє людське походження. Важливо, що клітинна лінія зберігає специфічні для кришталика молекулярні особливості, зокрема експресію α A- та β B-кристалінів і альдозоредуктази, хоча рівні білків є нижчими, ніж у первинних культурах HLE. мРНК обох кристалінів також було виявлено за допомогою RT-ПЦР, а секвенування підтвердило 100% ідентичність з опублікованими послідовностями людини. Це робить SRA01/04 першою встановленою лінією клітин кришталика людини, яка, як було показано, експресує як α A-, так і β B-кристаліни.

Окрім експресії кристалінів, клітини SRA01/04 експресують альдозоредуктазу — фермент, що бере участь у поліольному шляху, який має значення для розвитку катаракти. Хоча для оптимального росту потрібні 20 % сироватки ембріонів великої рогатої худоби, клітини можуть виживати та проліферувати при знижених рівнях сироватки або навіть у безсироваткових умовах, якщо їх попередньо прикріпити до культуральних чашок. Ця адаптивність, разом із стабільним фенотипом, специфічним для кришталика, робить SRA01/04 цінною моделлю для вивчення фізіології кришталика, регуляції генів в епітелії кришталика та механізмів, що лежать в основі утворення катаракти.

Organism

Людина

Tissue

Око, очний кришталік, епітелій

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)

Характеристики

Age

3 місяці

Gender

Чоловік

Morphology

Епітеліальноподібні

Cell type

Очна лінза

Клітини SRA01-04 | 305436

Growth properties

Адепт

Нормативні дані

Citation

SRA01-04 (номер у каталозі Cytion 305436)

Biosafety level

1

NCBI_TaxID

9606

CellosaurusAccession

CVCL_7157

GMO Status

GMO-S1: Ця лінія епітеліальних клітин кришталика людини SRA01-04 містить конструкт великого Т-антигену вірусу SV40, що дозволяє проводити дослідження кришталика ока. Ця класифікація діє лише на території Німеччини і може відрізнятися в інших країнах.

Біомолекулярні дані

Protein expression

Генетична інтеграція: Метод = Трансфекція; Ген = UniProtKB; P03070; великий Т-антиген SV40

Isoenzymes

LD, NP

Обробка

Culture Medium

ДМЕМ, w: 4,5 г/л Глюкоза, w: 4 мМ L-глутамін, w: 3,7 г/л NaHCO₃, w: 1,0 мМ піруват натрію (цит. номер 820300a)

Supplements

Додайте до середовища 20% FBS

Dissociation Reagent

Accutase

Seeding density

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

Fluid renewal

2 рази на тиждень

Клітини SRA01-04 | 305436

Freeze medium

Як середовище кріоконсервування ми використовуємо повне живильне середовище (включаючи FBS) + 10% ДМСО для адекватної життєздатності після відтавання або СМ-1 (номер за каталогом Cytion 800100), до складу якого входять оптимізовані осмопротектори та метаболічні стабілізатори для прискорення відновлення та зменшення кріоіндукованого стресу.

Thawing and Culturing Cells

1. Переконайтеся, що віал залишається глибоко замороженим після доставки, оскільки клітини транспортуються на сухому льоду для підтримання оптимальної температури під час транспортування.
2. Після отримання негайно зберігайте кріовіал при температурі нижче -150°C , щоб забезпечити збереження клітинної цілісності, або перейдіть до кроку 3, якщо потрібне негайне культивування.
3. Для негайного культивування швидко розморозьте віал, зануливши його у водяну баню з чистою водою і антимікробним засобом при температурі 37°C , обережно перемішуючи протягом 40-60 секунд, поки не залишиться невелика крижана грудка.
4. Всі наступні кроки виконуйте в стерильних умовах у проточній витяжній шафі, дезінфікуючи кріовіал 70% етанолом перед відкриттям.
5. Обережно відкрийте продезінфікований флакон і перенесіть клітинну суспензію в 15 мл центрифужну пробірку, що містить 8 мл культурального середовища кімнатної температури, обережно перемішуючи.
6. Відцентрифугуйте суміш при $300 \times g$ протягом 3 хвилин, щоб відокремити клітини, і обережно викиньте надосадову рідину, що містить залишки заморожувального середовища.
7. Обережно ресуспендуйте осад клітин у 10 мл свіжого культурального середовища. Для адгезивних клітин розділіть суспензію між двома культуральними колбами T25; для суспензійних культур перенесіть все середовище в одну колбу T25, щоб сприяти ефективній взаємодії та росту клітин.
8. Дотримуйтесь встановлених протоколів субкультивування для продовження росту і підтримання клітинної лінії, забезпечуючи надійні результати експерименту.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , волога атмосфера.

Shipping Conditions

Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевірній ізольованій упаковці з достатньою кількістю холодоагенту для підтримання температури приблизно -78°C під час транспортування. При отриманні негайно огляньте контейнер і без зволікань перемістіть флакони у відповідне місце зберігання.

Клітини SRA01-04 | 305436

Storage Conditions

Для тривалого зберігання помістіть флакони в парофазний рідкий азот при температурі від -150 до -196 °C. Зберігання при -80 °C допустиме лише як короткий проміжний етап перед перенесенням у рідкий азот.

Контроль якості та молекулярний аналіз

Sterility

Зараження мікоплазмою виключається за допомогою аналізів на основі ПЛР та люмінесцентних методів виявлення мікоплазми.

Щоб переконатися у відсутності бактеріального, грибового або дріжджового забруднення, клітинні культури піддаються щоденному візуальному контролю.