

Cellules SRA01-04 | 305436

Renseignements généraux

Description

La lignée cellulaire SRA01/04 est une lignée de cellules épithéliales du cristallin humain immortalisées, mise au point pour pallier les limites associées aux cultures primaires de cellules épithéliales du cristallin humain (HLE). Ces limites comprennent leur faible capacité de prolifération et la difficulté d'obtenir des quantités suffisantes de cellules à partir des cristallins de donneurs. La lignée SRA01/04 a été dérivée de cellules HLE primaires prélevées chez des nourrissons ayant subi une chirurgie pour une rétinopathie des prématurés. L'immortalisation a été réalisée par transfection avec un plasmide portant le gène de l'antigène T majeur du SV40 sous le contrôle du promoteur RSV. Cette approche évite l'utilisation d'un virus vivant et permet la sélection d'un clone uniforme présentant des caractéristiques constantes.

Les cellules SRA01/04 présentent une prolifération stable sur plus de 130 passages, avec un taux de doublement de la population d'environ 3,5 par passage. Sur le plan morphologique, elles conservent une monocouche présentant des caractéristiques épithéliales. L'analyse chromosomique a révélé un caryotype hypotétraploïde, compatible avec un statut d'immortalisation. Le phénotype isozymique a confirmé leur origine humaine. Il est important de noter que la lignée cellulaire conserve des caractéristiques moléculaires spécifiques au cristallin, notamment l'expression des cristallines αA et βB ainsi que de l'aldose réductase, bien qu'à des niveaux protéiques inférieurs à ceux observés dans les cultures primaires de HLE. L'ARNm des deux cristallines a également été détecté par RT-PCR, et le séquençage a confirmé une identité à 100 % avec les séquences humaines publiées. Cela fait de SRA01/04 la première lignée cellulaire humaine du cristallin établie dont on a démontré qu'elle exprimait à la fois les cristallines αA et βB .

Outre l'expression des cristallines, la lignée SRA01/04 exprime l'aldose réductase, une enzyme impliquée dans la voie des polyols, qui joue un rôle dans la formation de la cataracte. Bien qu'une croissance optimale nécessite 20 % de sérum fœtal bovin, les cellules peuvent survivre et proliférer avec des concentrations sériques réduites, voire dans des conditions sans sérum, si elles sont préalablement fixées à des plats de culture. Cette adaptabilité, combinée à leur phénotype stable et spécifique au cristallin, fait de la lignée SRA01/04 un modèle précieux pour l'étude de la physiologie du cristallin, de la régulation génique dans l'épithélium du cristallin et des mécanismes sous-jacents à la formation de la cataracte.

Organism

Humain

Tissue

Œil, cristallin, épithélium

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)

Caractéristiques

Age

3 mois

Gender

Homme

Morphology

De type épithélial

Cellules SRA01-04 | 305436**Cell type** Lentille oculaire**Growth properties** Adepté**Données réglementaires****Citation** SRA01-04 (numéro de catalogue Cytion 305436)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_7157**GMO Status** GMO-S1 : Cette lignée épithéliale du cristallin humain SRA01-04 contient une construction de l'antigène T de grande taille du SV40 permettant la recherche sur le cristallin. Cette classification ne s'applique qu'en Allemagne et peut varier ailleurs.**Données biomoléculaires****Protein expression** Intégration génétique : Méthode = Transfection; Gène = UniProtKB; P03070; Antigène T majeur du SV40**Isoenzymes** LD, NP**Manipulation****Culture Medium** DMEM, p/v : 4,5 g/L de glucose, p/v : 4 mM de L-glutamine, p/v : 3,7 g/L de NaHCO₃, p/v : 1,0 mM de pyruvate de sodium (référence Cytion 820300a)**Supplements** Ajouter 20 % de FBS au milieu de culture**Dissociation Reagent** Accutase**Seeding density** $2-4 \times 10^4/\text{cm}^2$ **Fluid renewal** 2 fois par semaine

Cellules SRA01-04 | 305436

Freeze medium

Comme milieu de cryoconservation, nous utilisons un milieu de croissance complet (contenant du sérum fœtal bovin) + 10 % de DMSO pour assurer une viabilité adéquate après décongélation, ou du CM-1 (référence Cytion 800100), qui contient des osmoprotecteurs et des stabilisateurs métaboliques optimisés pour améliorer la récupération et réduire le stress induit par la cryoconservation.

Thawing and Culturing Cells

1. Assurez-vous que le flacon reste bien congelé à la livraison, car les cellules sont expédiées sur de la glace sèche afin de maintenir des températures optimales pendant le transport.
2. À la réception, conservez immédiatement le cryofiole à une température inférieure à -150 °C pour garantir la préservation de l'intégrité cellulaire, ou passez à l'étape 3 si une culture immédiate est nécessaire.
3. Pour une culture immédiate, décongelez rapidement le flacon en l'immergeant dans un bain-marie à 37 °C contenant de l'eau propre et un agent antimicrobien, en agitant doucement pendant 40 à 60 secondes jusqu'à ce qu'il ne reste qu'un petit morceau de glace.
4. Effectuez toutes les étapes suivantes dans des conditions stériles sous une hotte à flux laminaire, en désinfectant le cryotube avec de l'éthanol à 70 % avant de l'ouvrir.
5. Ouvrez avec précaution le flacon désinfecté et transférez la suspension cellulaire dans un tube à centrifuger de 15 ml contenant 8 ml de milieu de culture à température ambiante, en mélangeant délicatement.
6. Centrifuger le mélange à 300 x g pendant 3 minutes pour séparer les cellules, puis jeter avec précaution le surnageant contenant le milieu de congélation résiduel.
7. Remettre délicatement le culot cellulaire en suspension dans 10 ml de milieu de culture frais. Pour les cellules adhérentes, répartir la suspension dans deux flacons de culture T25; pour les cultures en suspension, transférer la totalité du milieu dans un seul flacon T25 afin de favoriser une interaction et une croissance cellulaires efficaces.
8. Respectez les protocoles de sous-culture établis pour assurer la croissance continue et le maintien de la lignée cellulaire, garantissant ainsi des résultats expérimentaux fiables.

Incubation Atmosphere

37 °C, 5 % de CO_2 , atmosphère humidifiée.

Shipping Conditions

Les lignées cellulaires cryoconservées sont expédiées dans de la glace sèche, dans un emballage isotherme validé contenant suffisamment de réfrigérant pour maintenir une température d'environ -78 °C pendant tout le transport. À la réception, inspectez immédiatement le conteneur et transférez sans délai les flacons dans un lieu de stockage approprié.

Cellules SRA01-04 | 305436

Storage Conditions

Pour une conservation à long terme, placez les flacons dans de l'azote liquide en phase vapeur à une température comprise entre environ -150 et -196 °C. L'entreposage à -80 °C n'est acceptable qu'à titre d'étape intermédiaire de courte durée avant le transfert dans l'azote liquide.

Contrôle de la qualité et analyse moléculaire

Sterility

La contamination par les mycoplasmes est exclue à l'aide de tests basés sur la PCR et de méthodes de détection des mycoplasmes par luminescence.

Afin de s'assurer qu'il n'y a aucune contamination bactérienne, fongique ou par des levures, les cultures cellulaires font l'objet d'inspections visuelles quotidiennes.