

Các tế bào SRA01-04 | 305436

Thông tin chung

Description

Dòng tế bào SRA01/04 là một dòng tế bào biểu mô thủy tinh thể người bất tử hóa, được phát triển nhằm khắc phục những hạn chế liên quan đến việc nuôi cấy nguyên phát các tế bào biểu mô thủy tinh thể người (HLE). Những hạn chế này bao gồm khả năng sinh sôi thấp và khó khăn trong việc thu được lượng tế bào đủ từ thủy tinh thể của người hiến tặng. SRA01/04 được phân lập từ các tế bào HLE nguyên phát thu được từ trẻ sơ sinh phải phẫu thuật do bệnh võng mạc do sinh non. Quá trình bất tử hóa được thực hiện bằng cách chuyển gen vào tế bào thông qua plasmid mang gen kháng nguyên T lớn của SV40 dưới sự điều khiển của promoter RSV. Phương pháp này tránh việc sử dụng virus sống và cho phép chọn lọc được một dòng tế bào đồng nhất với các đặc tính nhất quán.

Các tế bào SRA01/04 thể hiện khả năng tăng sinh ổn định qua 130 chu kỳ nhân giống với mức nhân đôi quần thể khoảng 3,5 lần mỗi chu kỳ. Về mặt hình thái, chúng duy trì một lớp đơn có đặc điểm biểu mô. Phân tích nhiễm sắc thể cho thấy kiểu nhiễm sắc thể hypotetraploid, phù hợp với trạng thái bất tử hóa. Kết quả phân tích kiểu hình isozyme đã xác nhận nguồn gốc từ người của dòng tế bào này. Điều quan trọng là, dòng tế bào này vẫn giữ được các đặc điểm phân tử đặc trưng của thủy tinh thể, bao gồm sự biểu hiện của các protein α - và β -crystallin cũng như aldose reductase, mặc dù ở mức độ protein thấp hơn so với các nuôi cấy HLE nguyên phát. mRNA của cả hai loại protein tinh thể này cũng được phát hiện thông qua RT-PCR, và việc giải trình tự đã xác nhận độ trùng khớp 100% với các trình tự của người đã được công bố. Điều này khiến SRA01/04 trở thành dòng tế bào thủy tinh thể người đầu tiên được xác lập và được chứng minh là biểu hiện cả hai loại protein tinh thể α và β .

Ngoài việc biểu hiện các protein crystallin, SRA01/04 còn biểu hiện aldose reductase, một enzym tham gia vào con đường polyol, có liên quan đến quá trình hình thành đục thủy tinh thể. Mặc dù cần 20% huyết thanh bò thai để đạt được sự phát triển tối ưu, các tế bào vẫn có thể tồn tại và sinh sôi với nồng độ huyết thanh thấp hơn hoặc thậm chí trong điều kiện không có huyết thanh nếu được gắn sẵn vào đĩa nuôi cấy. Khả năng thích ứng này, cùng với kiểu hình đặc trưng ổn định của thủy tinh thể, khiến SRA01/04 trở thành một mô hình quý giá để nghiên cứu sinh lý học thủy tinh thể, điều hòa gen trong biểu mô thủy tinh thể và các cơ chế cơ bản dẫn đến sự hình thành đục thủy tinh thể.

Organism

Con người

Tissue

Mắt, thủy tinh thể, biểu mô

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)

Đặc điểm

Age

3 tháng

Gender

Nam

Morphology

Tương tự biểu mô

Các tế bào SRA01-04 | 305436

Cell type Thấu kính mắt**Growth properties** Người tuân thủ

Dữ liệu quy định

Citation SRA01-04 (Mã sản phẩm Cytion 305436)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_7157**GMO Status** GMO-S1: Dòng tế bào biểu mô thủy tinh thể người SRA01-04 này chứa cấu trúc gen kháng nguyên T lớn của SV40, cho phép tiến hành nghiên cứu về thủy tinh thể mắt. Phân loại này chỉ áp dụng tại Đức và có thể khác biệt ở các quốc gia khác.

Dữ liệu sinh học phân tử

Protein expression Tích hợp gen: Phương pháp = Truyền gen; Gen = UniProtKB; P03070; Kháng nguyên T lớn của SV40**Isoenzymes** LD, NP

Xử lý

Culture Medium DMEM, chứa: 4,5 g/L glucose, chứa: 4 mM L-glutamine, chứa: 3,7 g/L NaHCO₃, chứa: 1,0 mM natri pyruvate (số hiệu sản phẩm Cytion 820300a)**Supplements** Bổ sung 20% huyết thanh bò phôi (FBS) vào môi trường nuôi cấy**Dissociation Reagent** Accutase**Seeding density** 2-4*10⁴/cm²**Fluid renewal** 2 lần mỗi tuần

Các tế bào SRA01-04 | 305436**Freeze medium**

Như một môi trường bảo quản đông lạnh, chúng tôi sử dụng môi trường tăng trưởng hoàn chỉnh (bao gồm FBS) + 10% DMSO để đảm bảo độ sống sau khi rã đông, hoặc CM-1 (mã sản phẩm Cytion 800100), bao gồm các chất bảo vệ thẩm thấu và chất ổn định chuyển hóa được tối ưu hóa để cải thiện quá trình phục hồi và giảm stress do đông lạnh gây ra.

Thawing and Culturing Cells

1. Xác nhận rằng ống nghiệm vẫn được đông lạnh sâu khi giao hàng, vì tế bào được vận chuyển trên đá khô để duy trì nhiệt độ tối ưu trong quá trình vận chuyển.
2. Khi nhận hàng, hãy bảo quản ống nghiệm đông lạnh ngay lập tức ở nhiệt độ dưới -150°C để đảm bảo tính toàn vẹn của tế bào, hoặc tiến hành bước 3 nếu cần nuôi cấy ngay lập tức.
3. Để nuôi cấy ngay lập tức, hãy rã đông ống nghiệm nhanh chóng bằng cách ngâm nó trong bồn nước 37°C với nước sạch và chất kháng khuẩn, khuấy nhẹ trong 40-60 giây cho đến khi còn lại một khối băng nhỏ.
4. Thực hiện tất cả các bước tiếp theo trong điều kiện vô trùng trong tủ hút khí, khử trùng ống cryovial bằng cồn 70% trước khi mở.
5. Mở ống đã khử trùng một cách cẩn thận và chuyển hỗn hợp tế bào vào ống ly tâm 15 ml chứa 8 ml môi trường nuôi cấy ở nhiệt độ phòng, khuấy nhẹ.
6. Ly tâm hỗn hợp ở $300 \times g$ trong 3 phút để tách tế bào và cẩn thận loại bỏ dịch siêu âm chứa môi trường đông lạnh còn lại.
7. Nhẹ nhàng hòa tan lại khối tế bào trong 10 ml môi trường nuôi cấy tươi. Đối với tế bào bám dính, chia hỗn hợp vào hai bình nuôi cấy T25; đối với tế bào nuôi cấy lơ lửng, chuyển toàn bộ môi trường vào một bình T25 để thúc đẩy tương tác và phát triển tế bào hiệu quả.
8. Tuân thủ các quy trình nuôi cấy con được thiết lập để duy trì sự phát triển và bảo quản dòng tế bào, đảm bảo kết quả thí nghiệm đáng tin cậy.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , môi trường ẩm.

Shipping Conditions

Các dòng tế bào được bảo quản bằng phương pháp đông lạnh được vận chuyển trên đá khô trong bao bì cách nhiệt đã được kiểm định, kèm theo lượng chất làm lạnh đủ để duy trì nhiệt độ khoảng -78°C trong suốt quá trình vận chuyển. Khi nhận hàng, hãy kiểm tra ngay lập tức bao bì và chuyển các ống nghiệm sang nơi lưu trữ phù hợp mà không chậm trễ.

Các tế bào SRA01-04 | 305436

Storage Conditions

Để bảo quản lâu dài, hãy đặt ống nghiệm vào nitơ lỏng ở pha hơi ở nhiệt độ khoảng -150 đến -196 °C. Việc bảo quản ở -80 °C chỉ được chấp nhận như một bước trung gian ngắn hạn trước khi chuyển sang nitơ lỏng.

Kiểm soát chất lượng và phân tích phân tử

Sterility

Sự nhiễm khuẩn Mycoplasma được loại trừ bằng cả các phương pháp xét nghiệm dựa trên PCR và các phương pháp phát hiện Mycoplasma dựa trên phát quang.

Để đảm bảo không có nhiễm khuẩn vi khuẩn, nấm hoặc men, các mẫu nuôi cấy tế bào được kiểm tra trực quan hàng ngày.