SRA01-04

305436

ÜLDINE TEAVE

Kirjeldus

Rakuliin SRA01/04 on immortaliseeritud inimese silmaläätse epiteelirakuliin, mis on välja töötatud selleks, et ületada inimese silmaläätse epiteelirakkude (HLE) primaarkultuuridega seotud piiranguid. Nende piirangute hulka kuuluvad rakkude madal proliferatsioonivõime ning raskused piisava koguse rakkude saamisel doonorite silmaläätseist. SRA01/04 on saadud esmaste HLE-rakkudest, mis on võetud enneaegsete imikute silmast, kellel tehti operatsioon enneaegsete laste retinopaatia tõttu. Immortaliseerimine saavutati transfektsiooniga plasmiidiga, mis kandis RSV-promootori kontrolli all olevat SV40 suure T-antigeeni geeni. Selline lähenemine võimaldab vältida elusviiruse kasutamist ja valida välja ühtlaseid omadusi omava ühtse klooni.
SRA01/04 rakud näitavad stabiilset proliferatsiooni üle 130 passaaži, kus populatsiooni kahekordistumise tase on ligikaudu 3,5 passaaži kohta. Morfoloogiliselt säilitavad need epiteelile omaseid omadusi omava monokihi. Kromosoomianalüüs näitas hüpotetraploidset kariotüüpi, mis on kooskõlas immortaliseeritud staatusega. Isoensüümi fenotüüp kinnitas nende inimese päritolu. Oluline on, et rakuliin säilitab silmaläätse-spetsiifilised molekulaarsed omadused, sealhulgas αA- ja βB-kristalliinide ning aldose-reduktaasi ekspressiooni, kuigi valkude tasemed on madalamad kui esmaste HLE-kultuuride puhul. Mõlema kristalliini mRNA tuvastati ka RT-PCR-i abil ning sekveneerimine kinnitas 100% identiteeti avaldatud inimese järjestustega. See teeb SRA01/04-st esimese kindlaksmääratud inimese läätserakuliini, millel on näidatud nii αA- kui ka βB-kristalliinide ekspressiooni.
Lisaks kristalliinide ekspressioonile ekspresseerib SRA01/04 aldose-reduktaasi – ensüümi, mis osaleb polüoolide sünteesi rajas, mis on seotud katarakti tekkega. Kuigi optimaalseks kasvuks on vaja 20% loote veise seerumit, suudavad rakud ellu jääda ja paljuneda ka madalama seerumisisaldusega või isegi seerumivabas keskkonnas, kui need on eelnevalt kultuurikaussidele kinnitunud. See kohanemisvõime koos stabiilse läätsespetsiifilise fenotüübiga teeb SRA01/04-st väärtusliku mudeli läätses füsioloogia, läätses epiteeli geeniregulatsiooni ja katarakti tekke aluseks olevate mehhanismide uurimiseks.

Kude	Silm, silmalääts, epiteel

Sünonüümid

- 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)

KLASSIFIKATSIOON

Organism	Inimene
Sugu	Mees
Kasvuvõime	Järgija
GMO-staatus	GMO-S1

GMO-staatuse üksikasjad

GMO-S1: This SRA01-04 human lens epithelial line contains an SV40 large T-antigen construct enabling ocular lens research. This classification applies only within Germany and may differ elsewhere.

Bioloogilise ohutuse tase	1

Cytion GmbH
Nikola-Tesla-Str. 3
69124 Heidelberg
Tel: +49 (0)6221 405780
info@cytion.com
cytion.com

Registered office Heidelberg
VAT ID: DE283292917
Local court Mannheim - HRB 714394
CEO / Geschäftsführer: Jonathan Steubing

Banking information
Sparkasse Heidelberg
IBAN: DE35 6725 0020 0009 2076 86
BIC: SOLADES1HDB

OMADUSED

Morfoloogia	Epiteelilaadsed
Rakutüüp	Silmalääts

TUNNUSED

Viide

SRA01-04 (Cytioni kataloginumber 305436)

NCBI maksukood	9606
Cellosaurus	CVCL_7157

AVALDUMINE JA VASTUVÕTLIKKUS

Valgu ekspressioon

Geneetiline integratsioon: meetod = transfektsioon; geen = UniProtKB; P03070; SV40 suur T-antigeen

Isoensüümid

LD, NP

KÄSITLEMINE JA KASVATAMINE

Kasvatuskeskkond

DMEM madala glükoosisisaldusega

Inkubatsiooni keskkond	37°C, 5%CO2, niisutatud atmosfäär.

Toidulisandid

Täiendada söötme 10% FBS-ga

Dissotsiatsioonireaktiiv	Accutase
Külvitihedus	2–4 × 10^4/cm^2
Vedeliku vahetus	2 korda nädalas

Sulatamine ja kasvatamine

Confirm that the vial remains deeply frozen upon delivery, as cells are shipped on dry ice to maintain optimal temperatures during transit. Upon receipt, either store the cryovial immediately at temperatures below -150°C to ensure the preservation of cellular integrity, or proceed to step 3 if immediate culturing is required.
For immediate culturing, swiftly thaw the vial by immersing it in a 37°C water bath with clean water and an antimicrobial agent, agitating gently for 40-60 seconds until a small ice clump remains.
Perform all subsequent steps under sterile conditions in a flow hood, disinfecting the cryovial with 70% ethanol before opening.
Carefully open the disinfected vial and transfer the cell suspension into a 15 ml centrifuge tube containing 8 ml of room-temperature culture medium, mixing gently.
Centrifuge the mixture at 300 x g for 3 minutes to separate the cells and carefully discard the supernatant containing residual freezing medium.
Gently resuspend the cell pellet in 10 ml of fresh culture medium. For adherent cells, divide the suspension between two T25 culture flasks; for suspension cultures, transfer all the medium into one T25 flask to promote effective cell interaction and growth.
Adhere to established subculture protocols for continued growth and maintenance of the cell line, ensuring reliable experimental outcomes.

KVALITEEDIKONTROLL JA KRÜOKONSERVEERIMINE

Viljatus

Mükoplasmakontaminatsioon on välistatud nii PCR-põhiste analüüside kui ka luminestsentsil põhinevate mükoplasma tuvastamise meetodite abil.
Bakteriaalse, seene- või pärmsaaste puudumise tagamiseks kontrollitakse rakukultuure iga päev visuaalselt.

Külmutuskeskkond	Krüosäilitusvedelikusena kasutame täielikku kasvukeskkonda (sh FBS) + 10% DMSO, et tagada piisav elujõulisus pärast sulatamist, või CM-1 (Cytioni katalooginumber 800100), mis sisaldab optimeeritud osmoprotektante ja metaboolseid stabilisaatoreid, et parandada taastumist ja vähendada krüostressi.

Säilitamistingimused

Pikaajaliseks säilitamiseks asetage viaalid aurufaasis vedela lämmastikuga umbes -150 kuni -196 °C juures. Säilitamine temperatuuril -80 °C on vastuvõetav ainult lühikese vaheetapina enne vedela lämmastikuga üleviimist.

Tarne- ja kohaletoimetamistingimused

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu -78 °C. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige viaalid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

ANNETAJA

Doonori vanus	3 kuud

ÕIGUSLIKUD JA OHUTUSALASED KÜSIMUSED

Ohutusnõuded

Kui plaanitakse krüoviaalide säilitamist vedelas lämmastikus tulevase sulatamise eesmärgil, on kohustuslik järgida rangeid ohutusmeetmeid. Asjakohased kaitsekindad ja -riietus on hädavajalikud ning külmutatud proovide vedela lämmastiku mahutisse või mahutist väljaviimisel tuleb kasutada näomaski või kaitseprille. See on vajalik selleks, et vähendada vigastuste ohtu, mis tuleneb võimalikest krüoviaalide plahvatustest eemaldamisel, mille tagajärjel võivad välja paiskuda teravad killud.

Garantii

Cytion seisab oma toodete kvaliteedi ja elujõulisuse eest.
Me garanteerime, et meie rakud on elujõulised kasvatamise alguses 60 päeva jooksul pärast meie rajatistest saatmist.
Tagame, et kõik materjalid vastavad analüüsisertifikaadis ja/või tootelehel kirjeldatud spetsifikatsioonidele
Täielikke üksikasju leiate meie <a href="""/Who-we-are/Warranty/"" hreflang="""x-default"">Tagatise avaldusest

Vajalik on materjalide üleandmise leping	Yes

Cytion GmbH
Nikola-Tesla-Str. 3
69124 Heidelberg
Tel: +49 (0)6221 405780
info@cytion.com
cytion.com

Registered office Heidelberg
VAT ID: DE283292917
Local court Mannheim - HRB 714394
CEO / Geschäftsführer: Jonathan Steubing

Banking information
Sparkasse Heidelberg
IBAN: DE35 6725 0020 0009 2076 86
BIC: SOLADES1HDB