SRA01-04

305436

YLEISTÄ TIETOA

Kuvaus

SRA01/04-solulinja on ikuistettu ihmisen mykiön epiteelisolulinja, joka on kehitetty ihmisen mykiön epiteelisolujen (HLE) primaariviljelmien rajoitusten voittamiseksi. Näihin rajoituksiin kuuluvat solujen heikko lisääntymiskyky sekä vaikeus saada riittävä määrä soluja luovuttajien mykiöistä. SRA01/04 on johdettu primaarisista HLE-soluista, jotka on saatu ennenaikaisen retinopatian vuoksi leikkaukseen joutuneilta vauvoilta. Ikuistaminen saavutettiin transfektiolla, jossa käytettiin plasmidiä, joka kantoi SV40-viruksen suurta T-antigeenigeeniä RSV-promoottorin ohjauksessa. Tämä menetelmä välttää elävän viruksen käytön ja mahdollistaa yhdenmukaisilla ominaisuuksilla varustetun klonin valinnan.
SRA01/04-solut lisääntyvät vakaasti yli 130 sukupolven ajan, ja populaation kaksinkertaistumistaso on noin 3,5 sukupolvea kohti. Morfologisesti ne säilyttävät epiteelille ominaisen yksikerroksisen rakenteen. Kromosomianalyysi paljasti hypotetraploidisen karyotyypin, mikä on sopusoinnussa ikuistuneen tilan kanssa. Isoentsyymifenotyyppi vahvisti solujen ihmisperäisyyden. Tärkeää on, että solulinja säilyttää mykiöspesifiset molekyyliset ominaisuudet, mukaan lukien αA- ja βB-kristalliinien sekä aldoosireduktaasin ilmentymisen, vaikkakin alhaisemmilla proteiinitasoilla kuin primaarisissa HLE-viljelmissä. Molempien kristalliinien mRNA havaittiin myös RT-PCR:n avulla, ja sekvensointi vahvisti 100-prosenttisen identiteetin julkaistujen ihmisen sekvenssien kanssa. Tämä tekee SRA01/04:stä ensimmäisen vakiintuneen ihmisen mykiösolulinjan, jonka on osoitettu ilmentävän sekä αA- että βB-kristalliineja.
Krystalliinien ilmentymisen lisäksi SRA01/04 ilmentää aldoosireduktaasia, polyolireitissä mukana olevaa entsyymiä, jolla on merkitystä kaihien syntymisessä. Vaikka optimaalinen kasvu vaatii 20 %:n pitoisuutta naudan sikiöseerumia, solut voivat selviytyä ja lisääntyä alennetuilla seerumipitoisuuksilla tai jopa seerumittomissa olosuhteissa, jos ne on kiinnitetty etukäteen viljelyastioihin. Tämä sopeutumiskyky yhdessä niiden vakaiden, linssikohtaisten fenotyyppien kanssa tekee SRA01/04:stä arvokkaan mallin linssin fysiologian, linssiepiteelin geenisäätelyn sekä kaihien muodostumisen taustalla olevien mekanismien tutkimiseen.

Kudos	Silmä, silmän linssi, epiteeli

Synonyymit

- 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)

LUOKITTELU

Organismi	Ihminen
Sukupuoli	Mies
Kasvuominaisuudet	Kiinnittynyt
GMO-status	GMO-S1

GMO-statuksen tiedot

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.

Bioturvallisuustaso	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

OMINAISUUDET

Morfologia	Epiteelin kaltainen
Solutyyppi	Silmälinssi

TUNNISTEET

Lähdeviite

SRA01-04 (Cytionin tuotenumero 305436)

NCBI-verotunnus	9606
Cellosaurus	CVCL_7157

ILMENTYMINEN JA ALTTIUS

Proteiinin ilmentyminen

Geenien integrointi: Menetelmä = transfektio; Geeni = UniProtKB; P03070; SV40:n suuri T-antigeeni

Isoentsyymit

LD, NP

KÄSITTELY JA VILJELY

Viljelyalusta

DMEM, matala glukoosipitoisuus

Inkubaatioilma	37 °C, 5 %CO2, kostutettu ilmakehä.

Ravintolisät

Täydennetään elatusainetta 10 %:lla FBS:llä

Dissosiaatioreagenssi	Accutase
Kylvötiheys	2–4 × 10^4/cm^2
Nesteen uusiminen	2 kertaa viikossa

Sulatus ja viljely

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.

LAADUNVALVONTA JA KRYOSÄILYTYS

Hedelmättömyys

Mykoplasmakontaminaatio suljetaan pois sekä PCR-pohjaisilla määrityksillä että luminesenssiin perustuvilla mykoplasman osoitusmenetelmillä.
Bakteeri-, sieni- tai hiivakontaminaation välttämiseksi soluviljelmät tarkastetaan päivittäin silmämääräisesti.

Jäädytysaine	Kryosäilytysmediana käytämme täydellistä kasvualustaa (mukaan lukien FBS) + 10 % DMSO:ta riittävän sulatuksen jälkeisen elinkelpoisuuden varmistamiseksi tai CM-1:tä (Cytionin luettelonumero 800100), joka sisältää optimoituja osmoprotectantteja ja metabolisia stabilisaattoreita, jotka parantavat elpymistä ja vähentävät kryosäilytyksen aiheuttamaa stressiä.

Säilytysolosuhteet

Pitkäaikaissäilytystä varten injektiopullot asetetaan höyryfaasissa olevaan nestemäiseen typpeen noin -150 - -196 °C:een. Säilytys -80 °C:ssa on hyväksyttävää vain lyhyenä välivaiheena ennen siirtoa nestemäiseen typpeen.

Toimitusehdot

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäässä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

LAHJOITTAJA

Luovuttajan ikä	3 kuukautta

OIKEUDELLISET JA TURVALLISUUSASIAT

Turvallisuusohjeet

Kun suunnitellaan kryoputken säilyttämistä nestemäisessä typessä sulatusta varten, on noudatettava tiukkoja turvatoimenpiteitä. Asianmukaiset suojakäsineet ja -vaatteet ovat välttämättömiä, ja kasvonaamarin tai suojalasien käyttö on välttämätöntä siirrettäessä jäädytettyjä näytteitä nestetyppisäiliöön tai siitä pois. Tällä pyritään pienentämään loukkaantumisriskiä, joka aiheutuu kryoputkien mahdollisista räjähdyksistä, jotka voivat aiheuttaa terävien sirpaleiden sinkoutumisen.

Takuu

Me Cytionilla seisomme tuotteidemme laadun ja elinkelpoisuuden takana.
Takaamme, että solumme ovat elinkelpoisia viljelyn alkaessa 60 päivän ajan sen jälkeen, kun ne on lähetetty laitoksestamme.
Vakuutamme, että kaikki materiaalit ovat analyysitodistuksessa ja/tai tuoteselosteessa kuvattujen eritelmien mukaisia
Lisätietoja on <a href=""/Who-we-are/Warranty/"" hreflang=""""x-default"">Takuulausumassa

Aineiden siirtoa koskeva sopimus vaaditaan	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