SRA01-04

305436

VISPĀRĪGA INFORMĀCIJA

Apraksts

Šūnu līnija SRA01/04 ir imortalizēta cilvēka lēcas epitēlija šūnu līnija, kas izstrādāta, lai pārvarētu ierobežojumus, kas saistīti ar cilvēka lēcas epitēlija (HLE) šūnu primārajām kultūrām. Šie ierobežojumi ietver to zemo proliferācijas spēju un grūtības iegūt pietiekamu šūnu daudzumu no donoru lēcām. SRA01/04 tika iegūta no primārām HLE šūnām, kas tika iegūtas no zīdaiņiem, kuriem tika veikta operācija saistībā ar priekšlaicīgas dzimšanas retinopātiju. Nemirstīgumu panāca, veicot transfekciju ar plazmīdu, kas nes SV40 lielā T antigēna gēnu RSV promotora kontrolē. Šī pieeja ļauj izvairīties no dzīva vīrusa izmantošanas un nodrošina vienveidīga klona ar nemainīgām īpašībām atlasi. SRA01/04 šūnas uzrāda stabilu proliferāciju vairāk nekā 130 pasāžos, ar populācijas dubultošanās līmeni aptuveni 3,5 reizes katrā pasāžā. Morfoloģiski tās saglabā monoslāni ar epitēlija pazīmēm. Hromosomu analīze atklāja hipotetraploīdu kariotipu, kas atbilst nemirstīgajam statusam. Izoenzīmu fenotips apstiprināja to cilvēcisko izcelsmi. Svarīgi, ka šī šūnu līnija saglabā lēcas specifiskas molekulārās īpašības, tostarp αA- un βB-kristalīnu un aldózredukcāzes ekspresiju, lai gan proteīnu līmenis ir zemāks nekā primārajās HLE kultūrās. Ar RT-PCR tika noteikta arī abu kristalīnu mRNA, un sekvencēšana apstiprināja 100 % identitāti ar publicētajām cilvēka sekvencēm. Tas padara SRA01/04 par pirmo izveidoto cilvēka lēcas šūnu līniju, par kuru pierādīts, ka tā ekspresē gan αA-, gan βB-kristalīnus.
Papildus kristalīnu ekspresijai SRA01/04 ekspresē aldózreduktazi — fermentu, kas iesaistīts poliolu sintēzes ceļā, kam ir nozīme kataraktas attīstībā. Lai gan optimālai augšanai nepieciešams 20 % teļa seruma, šūnas spēj izdzīvot un vairoties arī ar samazinātu seruma koncentrāciju vai pat bez seruma, ja tās iepriekš ir piestiprinātas pie kultūras traukiem. Šī pielāgošanās spēja kopā ar to stabilo, lēcai raksturīgo fenotipu padara SRA01/04 par vērtīgu modeli lēcas fizioloģijas, gēnu regulācijas lēcas epitēlijā un kataraktas veidošanās pamatā esošo mehānismu pētīšanai.

Audums	Acs, acs lēca, epitēlijs

Sinonīmi

- 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)

KLASIFIKĀCIJA

Organisms	Cilvēks
Sekss	Vīrietis
Augšanas īpašības	Atbalstītājs
ĢMO statuss	GMO-S1

Sīkāka informācija par ĢMO statusu

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.

Bioloģiskās drošības līmenis	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

RAKSTURLIELUMI

Morfoloģija	Epitēlijveidīgs
Šūnu tips	Acu lēca

IDENTIFIKATORI

Atsauce

SRA01-04 (Cytion kataloga numurs 305436)

NCBI nodokļu identifikācijas numurs	9606
Cellosaurus	CVCL_7157

PAZĪMES UN UZŅĒMĪBA

Proteīnu ekspresija

Ģenētiskā integrācija: Metode = transfekcija; Gēns = UniProtKB; P03070; SV40 lielais T antigēns

Izoenzīmi

LD, NP

APSTRĀDE UN AUDZĒŠANA

Barotne

DMEM ar zemu glikozes līmeni

Inkubācijas vide	37°C, 5%CO2, mitrināta atmosfēra.

Papildinājumi

Papildināt barotni ar 10% FBS

Disociācijas reaģents	Accutase
Sēšanas blīvums	2–4 × 10^4/cm^2
Šķidruma atjaunošana	2 reizes nedēļā

Atkausēšana un kultivēšana

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.

KVALITĀTES KONTROLE UN KRIOKONSERVĀCIJA

Sterilitāte

Mikoplazmas piesārņojums tiek izslēgts, izmantojot gan uz PCR balstītus testus, gan uz luminiscenci balstītas mikoplazmas noteikšanas metodes.
Lai pārliecinātos, ka nav baktēriju, sēnīšu vai rauga piesārņojuma, šūnu kultūras katru dienu vizuāli pārbauda.

Saldēšanas barotne	Kā kriokonservēšanas barotni mēs izmantojam pilnvērtīgu augšanas barotni (ieskaitot FBS) + 10 % DMSO, lai nodrošinātu pietiekamu dzīvotspēju pēc atkausēšanas, vai CM-1 (Cytion kataloga numurs 800100), kas ietver optimizētus osmoprotektorus un metaboliskos stabilizatorus, lai uzlabotu atveseļošanos un samazinātu krioinducēto stresu.

Uzglabāšanas nosacījumi

Ilgstošai uzglabāšanai flakonus ievietojiet šķidrā slāpeklī ar tvaika fāzi aptuveni -150 līdz -196 °C temperatūrā. Uzglabāšana -80 °C temperatūrā ir pieļaujama tikai kā īss starpposms pirms pārvietošanas uz šķidro slāpekli.

Piegādes nosacījumi

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidruma daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

ZIEDOTĀJS

Donora vecums	3 mēneši

JURIDISKIE JAUTĀJUMI UN DROŠĪBA

Drošības pasākumi

Plānojot uzglabāt kriokviālu šķidrā slāpeklī turpmākai atkausēšanai, obligāti jāievēro stingri drošības pasākumi. Ir nepieciešami piemēroti aizsargcimdi un apģērbs, un, pārvietojot sasaldētos paraugus uz šķidrā slāpekļa tvertni vai no tās, ir jālieto sejas maska vai aizsargbrilles. Tas jādara, lai mazinātu traumu risku, ko var radīt iespējamas kriokrioviālu eksplozijas, kas var izraisīt asu fragmentu izmešanu.

Garantija

Uzņēmumā Cytion mēs atbalstām savu produktu kvalitāti un dzīvotspēju.
Mēs garantējam, ka mūsu šūnas būs dzīvotspējīgas kultivēšanas sākumā 60 dienas pēc nosūtīšanas no mūsu ražotnēm.
Mēs nodrošinām, ka visi materiāli atbilst analīzes sertifikātā un/vai produkta lapā aprakstītajām specifikācijām
Lai iegūtu sīkāku informāciju, lūdzu, skatiet mūsu <a href=""/"/Kas mēs esam/garantija/"" hreflang=""x-default"">Garantijas paziņojumu

Nepieciešams materiālu nodošanas līgums	Yes