SRA01-04

305436

ALGEMENE INFORMATIE

Beschrijving

De SRA01/04-cellijn is een geïmmortaliseerde menselijke lens-epitheelcellijn die is ontwikkeld om de beperkingen van primaire culturen van menselijke lens-epitheelcellen (HLE-cellen) te ondervangen. Deze beperkingen omvatten onder meer hun lage proliferatievermogen en de moeilijkheid om voldoende hoeveelheden cellen uit donorlenzen te verkrijgen. SRA01/04 is afgeleid van primaire HLE-cellen die zijn verkregen van zuigelingen die een operatie ondergingen voor retinopathie bij prematuren. De onsterfelijkmaking werd bereikt door transfectie met een plasmide dat het SV40-groot-T-antigeengen draagt onder controle van de RSV-promotor. Deze aanpak vermijdt het gebruik van levend virus en maakt de selectie mogelijk van een uniforme kloon met consistente kenmerken.
SRA01/04-cellen vertonen een stabiele proliferatie gedurende 130 passages met een populatieverdubbelingsniveau van ongeveer 3,5 per passage. Morfologisch behouden ze een monolaag met epitheliale kenmerken. Chromosomale analyse bracht een hypotetraploïd karyotype aan het licht, wat overeenkomt met een onsterfelijke status. Het isozymefenotype bevestigde hun menselijke oorsprong. Belangrijk is dat de cellijn lensspecifieke moleculaire kenmerken behoudt, waaronder de expressie van αA- en βB-kristallinen en aldosereductase, zij het op lagere eiwitniveaus dan waargenomen in primaire HLE-culturen. mRNA voor beide kristallinen werd ook gedetecteerd via RT-PCR, en sequentiebepaling bevestigde 100% identiteit met gepubliceerde menselijke sequenties. Dit maakt SRA01/04 de eerste vastgestelde menselijke lenscellijn waarvan is aangetoond dat deze zowel αA- als βB-kristallinen tot expressie brengt.
Naast de expressie van kristallinen brengt SRA01/04 ook aldose-reductase tot expressie, een enzym dat betrokken is bij de polyolroute, die relevant is voor de ontwikkeling van cataract. Hoewel voor optimale groei 20% foetaal runderserum nodig is, kunnen de cellen overleven en zich vermenigvuldigen bij lagere serumconcentraties of zelfs in serumvrije omstandigheden, mits ze vooraf aan kweekschalen zijn gehecht. Dit aanpassingsvermogen, in combinatie met hun stabiele lensspecifieke fenotype, maakt SRA01/04 tot een waardevol model voor het bestuderen van de fysiologie van de lens, genregulatie in het lensepitheel en de mechanismen die ten grondslag liggen aan de vorming van cataract.

Weefsel	Oog, ooglens, epitheel

Synoniemen

- 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)

CLASSIFICATIE

Organisme	Mens
Seks	Man
Groei-eigenschappen	Aanhanger
GGO-status	GMO-S1

Details over de GGO-status

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.

Bioveiligheidsniveau	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

KENMERKEN

Morfologie	Epitheelachtig
Celtype	Ooglens

IDENTIFICATIEGEGEVENS

Bronvermelding

SRA01-04 (Cytion-catalogusnummer 305436)

NCBI-belastingnummer	9606
Cellosaurus	CVCL_7157

EXPRESSIE EN VATBAARHEID

Eiwit-expressie

Genetische integratie: Methode = Transfectie; Gen = UniProtKB; P03070; SV40 groot T-antigeen

Iso-enzymen

LD, NP

BEHANDELING EN KWEEK

Kweekmedium

DMEM met laag glucosegehalte

Incubatieomgeving	37°C, 5%CO2, bevochtigde atmosfeer.

Supplementen

Vul het medium aan met 10% FBS

Dissociatiereagens	Accutase
Zaaidichtheid	2-4*10⁴/cm²
Vloeistofverversing	2 keer per week

Ontdooien en kweken

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.

KWALITEITSCONTROLE EN CRYOPRESERVATIE

Onvruchtbaarheid

Mycoplasmaverontreiniging wordt uitgesloten met zowel PCR-gebaseerde testen als op luminescentie gebaseerde mycoplasmadetectiemethoden.
Om er zeker van te zijn dat er geen besmetting is met bacteriën, schimmels of gisten, worden de celculturen dagelijks onderworpen aan visuele inspecties.

Kweekmedium invriezen	Als cryoconserveringsmedium gebruiken we volledig groeimedium (inclusief FBS) + 10% DMSO voor voldoende levensvatbaarheid na het ontdooien, of CM-1 (Cytion catalogusnummer 800100), dat geoptimaliseerde osmoprotectanten en metabolische stabilisatoren bevat om het herstel te verbeteren en door cryo geïnduceerde stress te verminderen.

Opslagvoorwaarden

Voor langdurige bewaring plaatst u flesjes in vloeibare stikstof in dampfase bij ongeveer -150 tot -196 °C. Opslag bij -80 °C is alleen aanvaardbaar als korte tussenstap vóór overbrenging naar vloeibare stikstof.

Verzendvoorwaarden

Gecryopreserveerde cellijnen worden verzonden op droog ijs in gevalideerde, geïsoleerde verpakkingen met voldoende koelmiddel om gedurende het transport ongeveer -78 °C te handhaven. Inspecteer de verpakking onmiddellijk na ontvangst en breng de flacons onverwijld over naar de juiste opslagplaats.

DONATEUR

Leeftijd van de donor	3 maanden

JURIDISCHE EN VEILIGHEIDSASPECTEN

Veiligheidsmaatregelen

Wanneer men van plan is om een cryovial in vloeibare stikstof op te slaan om later te ontdooien, is het verplicht om strenge veiligheidsmaatregelen in acht te nemen. Passende beschermende handschoenen en kleding zijn essentieel en het gebruik van een gezichtsmasker of veiligheidsbril is vereist tijdens het overbrengen van bevroren monsters naar of uit de tank met vloeibare stikstof. Dit is om het risico op letsel door mogelijke cryoviale explosies bij het verwijderen te beperken, wat kan resulteren in de projectie van scherpe fragmenten.

Garantie

Bij Cytion staan we achter de kwaliteit en levensvatbaarheid van onze producten.
We garanderen dat onze cellen levensvatbaar zijn bij het begin van de kweek gedurende 60 dagen na verzending vanuit onze faciliteiten.
We verzekeren dat alle materialen voldoen aan de specificaties beschreven in het analysecertificaat en/of productblad
Raadpleeg voor volledige informatie onze <a href=""/Wie-zijn-wij/Garantie/"" hreflang=""x-default"">Garantieverklaring

Er is een overeenkomst inzake materiaaloverdracht vereist	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