SRA01-04

305436

INFORMACJE OGÓLNE

Opis

Linia komórkowa SRA01/04 to nieśmiertelna linia komórek nabłonka soczewki ludzkiej, opracowana w celu przezwyciężenia ograniczeń związanych z pierwotnymi hodowlami komórek nabłonka soczewki ludzkiej (HLE). Ograniczenia te obejmują ich niską zdolność proliferacyjną oraz trudności w uzyskaniu wystarczających ilości komórek z soczewek dawców. Linia SRA01/04 została wyhodowana z pierwotnych komórek HLE pobranych od niemowląt poddanych operacji z powodu retinopatii wcześniaków. Nieśmiertelność uzyskano poprzez transfekcję plazmidem zawierającym gen dużego antygenu T wirusa SV40 pod kontrolą promotora RSV. Podejście to pozwala uniknąć stosowania żywego wirusa i umożliwia selekcję jednolitego klonu o spójnych cechach.
Komórki SRA01/04 wykazują stabilną proliferację przez ponad 130 pasażów, przy współczynniku podwojenia populacji wynoszącym około 3,5 na pasaż. Pod względem morfologicznym zachowują one układ jednowarstwowy o cechach nabłonkowych. Analiza chromosomowa wykazała kariotyp hipotetraploidalny, zgodny ze statusem komórek nieśmiertelnych. Fenotyp izozymowy potwierdził ich ludzkie pochodzenie. Co istotne, linia komórkowa zachowuje cechy molekularne charakterystyczne dla soczewki, w tym ekspresję krystalin αA i βB oraz reduktazy aldozowej, choć na niższym poziomie białkowym niż obserwowany w pierwotnych hodowlach komórek HLE. Za pomocą RT-PCR wykryto również mRNA obu krystalin, a sekwencjonowanie potwierdziło 100-procentową identyczność z opublikowanymi sekwencjami ludzkimi. To sprawia, że SRA01/04 jest pierwszą ustanowioną ludzką linią komórkową soczewki, w której wykazano ekspresję zarówno krystalin αA, jak i βB.
Oprócz ekspresji krystalin, linia SRA01/04 wykazuje ekspresję reduktazy aldozowej – enzymu biorącego udział w szlaku poliolowym, który ma znaczenie w patogenezie zaćmy. Chociaż optymalny wzrost wymaga 20% surowicy płodowej bydlęcej, komórki mogą przetrwać i namnażać się przy obniżonym stężeniu surowicy, a nawet w warunkach bezsurowicowych, jeśli zostaną wcześniej przyczepione do naczyń hodowlanych. Ta zdolność adaptacyjna, w połączeniu ze stabilnym fenotypem specyficznym dla soczewki, sprawia, że linia SRA01/04 stanowi cenny model do badania fizjologii soczewki, regulacji genów w nabłonku soczewki oraz mechanizmów leżących u podstaw powstawania zaćmy.

Chusteczka	Oko, soczewka oka, nabłonek

Synonimy

- 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)

KLASYFIKACJA

Organizm	Człowiek
Seks	Mężczyzna
Właściwości związane ze wzrostem	Zwolennik
Status GMO	GMO-S1

Szczegółowe informacje dotyczące statusu GMO

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.

Poziom bezpieczeństwa biologicznego	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

CECHY CHARAKTERYSTYCZNE

Morfologia	Podobny do nabłonka
Typ komórki	Soczewka oka

IDENTYFIKATORY

Źródło

SRA01-04 (numer katalogowy Cytion 305436)

Numer identyfikacji podatkowej NCBI	9606
Cellosaurus	CVCL_7157

EKSPRESJA I PODATNOŚĆ

Ekspresja białek

Integracja genetyczna: Metoda = transfekcja; Gen = UniProtKB; P03070; duży antygen T wirusa SV40

Izoenzymy

LD, NP

POSTĘPOWANIE I HODOWLA

Pożywka hodowlana

DMEM o niskiej zawartości glukozy

Atmosfera inkubacyjna	37°C, 5%CO2, nawilżona atmosfera.

Suplementy

Uzupełnić podłoże 10% FBS

Odczynnik dysocjacyjny	Accutase
Gęstość wysiewu	2–4 × 10^4/cm^2
Odnawianie płynów	2 razy w tygodniu

Rozmrażanie i hodowla

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.

KONTROLA JAKOŚCI I KRIOKONSERWACJA

Bezpłodność

Zanieczyszczenie mykoplazmą jest wykluczane przy użyciu zarówno testów opartych na PCR, jak i metod wykrywania mykoplazmy opartych na luminescencji.
Aby upewnić się, że nie ma zanieczyszczenia bakteriami, grzybami lub drożdżami, hodowle komórkowe są poddawane codziennym kontrolom wizualnym.

Pożywka do zamrażania	Jako pożywki do kriokonserwacji używamy kompletnej pożywki wzrostowej (w tym FBS) + 10% DMSO w celu zapewnienia odpowiedniej żywotności po rozmrożeniu lub CM-1 (numer katalogowy Cytion 800100), która zawiera zoptymalizowane osmoprotektanty i stabilizatory metaboliczne w celu zwiększenia regeneracji i zmniejszenia stresu wywołanego kriokonserwacją.

Warunki przechowywania

W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiolki w ciekłym azocie w fazie lotnej w temperaturze od -150 do -196 °C.
Przechowywanie w temperaturze -80 °C jest dopuszczalne tylko jako krótki etap przejściowy przed przeniesieniem do ciekłego azotu.

Warunki wysyłki

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

DARCZYŃCA

Wiek dawcy	3 miesiące

KWESTIE PRAWNE I BEZPIECZEŃSTWO

Środki bezpieczeństwa

Planując przechowywanie kriofiolek w ciekłym azocie w celu ich późniejszego rozmrożenia, należy bezwzględnie przestrzegać rygorystycznych środków bezpieczeństwa. Niezbędne są odpowiednie rękawice i odzież ochronna, a podczas przenoszenia zamrożonych próbek do lub ze zbiornika z ciekłym azotem wymagane jest stosowanie maski lub okularów ochronnych. Ma to na celu zmniejszenie ryzyka obrażeń spowodowanych potencjalnymi eksplozjami kriowialu podczas wyjmowania, które mogą skutkować wyrzuceniem ostrych fragmentów.

Gwarancja

W Cytion gwarantujemy jakość i żywotność naszych produktów.
Gwarantujemy, że nasze komórki będą żywotne na początku hodowli przez 60 dni po wysyłce z naszych zakładów.
Zapewniamy, że wszystkie materiały są zgodne ze specyfikacjami opisanymi w certyfikacie analizy i/lub karcie produktu
Szczegółowe informacje można znaleźć w naszej <a href=""/Who-we-are/Warranty/"" hreflang=""x-default"">Oświadczeniu gwarancyjnym

Wymagana umowa o transferze materiałów	Yes