SRA01-04

305436

SPLOŠNE INFORMACIJE

Opis

Celična linija SRA01/04 je imortalizirana linija človeških epitelnih celic leče, razvita z namenom premagovanja omejitev, povezanih s primarnimi kulturami človeških epitelnih celic leče (HLE). Te omejitve vključujejo njihovo nizko sposobnost razmnoževanja ter težave pri pridobivanju zadostnih količin celic iz leč darovalcev. Linija SRA01/04 izhaja iz primarnih HLE-celic, pridobljenih iz dojenčkov, ki so se podvrgli operaciji zaradi retinopatije prezgodaj rojenih otrok. Nesmrtnost je bila dosežena s transfekcijo s plazmidom, ki nosi gen za velik T-antigen SV40 pod nadzorom promotorja RSV. Ta pristop preprečuje uporabo živega virusa in omogoča selekcijo enotnega klona z doslednimi lastnostmi.
Celice SRA01/04 kažejo stabilno proliferacijo skozi več kot 130 pasaz, s stopnjo podvojevanja populacije približno 3,5 na pasaz. Morfološko ohranjajo monosloj z epitelijskimi značilnostmi. Kromosomska analiza je razkrila hipotetraploidni kariotip, kar je skladno z imortaliziranim statusom. Fenotip izoenzimov je potrdil njihov človeški izvor. Pomembno je, da celična linija ohranja molekularne značilnosti, specifične za lečo, vključno z izražanjem αA- in βB-kristalinov ter aldosoreduktaze, čeprav na nižjih ravneh beljakovin kot v primarnih kulturah HLE. mRNA za oba kristalina je bila prav tako zaznana z metodo RT-PCR, sekvenciranje pa je potrdilo 100-odstotno identiteto z objavljenimi človeškimi sekvencami. S tem je SRA01/04 prva vzpostavljena človeška linija lečinih celic, za katero je bilo dokazano, da izraža tako αA- kot tudi βB-kristaline.
Poleg ekspresije kristalina linija SRA01/04 izraža tudi aldosno reduktazo, encim, vpleten v poliolno pot, ki je pomembna za nastanek katarakte. Čeprav za optimalno rast potrebujejo 20 % fetalnega govejega seruma, lahko celice preživijo in se razmnožujejo tudi pri zmanjšanih koncentracijah seruma ali celo v brezserumskih pogojih, če so predhodno pritrjene na kultivacijske posode. Ta prilagodljivost, skupaj z njihovim stabilnim fenotipom, značilnim za lečo, naredi linijo SRA01/04 dragocen model za preučevanje fiziologije leče, genetske regulacije v epitelu leče ter mehanizmov, ki so osnova za nastanek katarakte.

Tkivo	Oko, očesna leča, epitel

Sinonimi

- 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)

RAZVRSTITEV

Organizem	Človek
Seks	Moški
Lastnosti rasti	Pripadnik
Status GSO	GMO-S1

Podrobnosti o statusu GSO

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.

Stopnja biološke varnosti	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

ZNAČILNOSTI

Morfologija	Epitelijam podobni
Vrsta celice	Očesna leča

IDENTIFIKATORJI

Navajanje vira

SRA01-04 (kataloška številka Cytion 305436)

Davčna identifikacijska številka NCBI	9606
Cellosaurus	CVCL_7157

IZRAŽANJE IN DOVZETNOST

Ekspresija beljakovin

Genetska integracija: Metoda = transfekcija; Gen = UniProtKB; P03070; velik T-antigen SV40

Izoenzimi

LD, NP

RAVNANJE IN GOJENJE

Gojišče

DMEM z nizko vsebnostjo glukoze

Inkubacijska atmosfera	37 °C, 5 %CO2, vlažno ozračje.

Prehranska dopolnila

Gojišče dopolnite z 10 % FBS

Reagenca za disociacijo	Accutase
Gostota setve	2–4 × 10^4/cm^2
Obnova tekočine	2-krat na teden

Odtaljevanje in gojenje

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 KAKOVOSTI IN KRIOPREZERVACIJA

Sterilnost

Kontaminacija z mikoplazmo se izključi z uporabo testov na podlagi PCR in metod za odkrivanje mikoplazme na podlagi luminiscence.
Da se zagotovi, da ni kontaminacije z bakterijami, glivami ali kvasovkami, se celične kulture dnevno vizualno pregledujejo.

Medij za zamrzovanje	Kot gojišče za kriokonzervacijo uporabljamo popolno rastno gojišče (vključno s FBS) + 10 % DMSO za ustrezno vitalnost po odmrznitvi ali CM-1 (kataloška številka 800100 podjetja Cytion), ki vključuje optimizirane osmoprotektante in presnovne stabilizatorje za izboljšanje okrevanja in zmanjšanje stresa, povzročenega s kriom.

Pogoji shranjevanja

Za dolgotrajno shranjevanje viale postavite v tekoči dušik v parni fazi pri približno -150 do -196 °C. Shranjevanje pri -80 °C je sprejemljivo le kot kratek vmesni korak pred prenosom v tekoči dušik.

Pogoji dostave

Kriokonzervirane celične linije se pošiljajo na suhem ledu v potrjeni, izolirani embalaži z zadostno količino hladilnega sredstva, da se med prevozom vzdržuje približno -78 °C. Ob prejemu takoj preglejte embalažo in viale nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.

DONATOR

Starost darovalca	3 mesece

PRAVNE ZADEVE IN VARNOST

Varnostni ukrepi

Pri načrtovanju shranjevanja kriovialov v tekočem dušiku za kasnejše odtaljevanje je treba obvezno upoštevati stroge varnostne ukrepe. Nujni so ustrezne zaščitne rokavice in oblačila, med prenosom zamrznjenih vzorcev v rezervoar s tekočim dušikom ali iz njega pa je potrebna uporaba obrazne maske ali zaščitnih očal. S tem se zmanjša tveganje poškodb zaradi morebitnih eksplozij kriovialov pri odstranjevanju, ki lahko povzročijo izstrelitev ostrih delcev.

Garancija

V podjetju Cytion stojimo za kakovostjo in uporabnostjo svojih izdelkov.
Zagotavljamo, da bodo naše celice ob začetku gojenja še 60 dni po odpremi iz naših obratov vitalne.
Zagotavljamo, da so vsi materiali skladni s specifikacijami, opisanimi v potrdilu o analizi in/ali listu izdelka
Za vse podrobnosti si oglejte našo <a href=""/Kdo smo/Warranty/"" hreflang=""x-default"">Garancijsko izjavo

Potreben je sporazum o prenosu materiala	Yes