

Células SRA01-04 | 305436**Información general****Description**

La línea celular SRA01/04 es una línea celular epitelial del cristalino humano immortalizada, desarrollada para superar las limitaciones asociadas a los cultivos primarios de células epiteliales del cristalino humano (HLE). Entre estas limitaciones se encuentran su escasa capacidad proliferativa y la dificultad para obtener cantidades suficientes de células a partir de los cristales de los donantes. La línea SRA01/04 se obtuvo a partir de células HLE primarias procedentes de lactantes sometidos a cirugía por retinopatía del prematuro. La immortalización se logró mediante la transfección con un plásmido que portaba el gen del antígeno T grande del SV40 bajo el control del promotor del RSV. Este enfoque evita el uso de virus vivos y permite la selección de un clon uniforme con características consistentes.

Las células SRA01/04 muestran una proliferación estable a lo largo de 130 pases, con un nivel de duplicación de la población de aproximadamente 3,5 por pase. Morfológicamente, mantienen una monocapa con características epiteliales. El análisis cromosómico reveló un cariotipo hipotetraploide, compatible con su estado de immortalización. El fenotipo isoenzimático confirmó su origen humano. Es importante destacar que la línea celular conserva rasgos moleculares específicos del cristalino, incluida la expresión de cristalinas α A y β B y de la aldosa reductasa, aunque a niveles proteicos inferiores a los observados en cultivos primarios de HLE. También se detectó el ARNm de ambas cristalinas mediante RT-PCR, y la secuenciación confirmó una identidad del 100 % con las secuencias humanas publicadas. Esto convierte a SRA01/04 en la primera línea celular de cristalino humano establecida de la que se ha demostrado que expresa tanto las cristalinas α A como las β B.

Además de la expresión de cristalinas, la línea SRA01/04 expresa aldosa reductasa, una enzima implicada en la vía de los polioles, que es relevante para la cataractogénesis. Aunque para un crecimiento óptimo se requiere un 20 % de suero fetal bovino, las células pueden sobrevivir y proliferar con niveles reducidos de suero o incluso en condiciones sin suero si se han adherido previamente a las placas de cultivo. Esta adaptabilidad, junto con su fenotipo estable específico del cristalino, convierte a la línea SRA01/04 en un valioso modelo para estudiar la fisiología del cristalino, la regulación génica en el epitelio del cristalino y los mecanismos subyacentes a la formación de cataratas.

Organism

Humano

Tissue

Ojo, cristalino, epitelio

Synonyms

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)

Características**Age**

3 meses

Gender

Hombre

Morphology

De tipo epitelial

Cell type

Lente ocular

Células SRA01-04 | 305436**Growth properties**

Adherente

Datos reglamentarios**Citation**

SRA01-04 (número de catálogo de Cytion 305436)

Biosafety level

1

NCBI_TaxID

9606

CellosaurusAccession

CVCL_7157

GMO Status

GMO-S1: Esta línea celular de epitelio del cristalino humano SRA01-04 contiene un constructo del antígeno T grande del SV40 que permite la investigación sobre el cristalino ocular. Esta clasificación solo es válida en Alemania y puede variar en otros países.

Datos biomoleculares**Protein expression**

Integración genética: Método = Transfección; Gen = UniProtKB; P03070; Antígeno T grande del SV40

Isoenzymes

LD, NP

Manejo de**Culture Medium**DMEM, w: 4,5 g/L de glucosa, w: 4 mM de L-glutamina, w: 3,7 g/L de NaHCO₃, w: 1,0 mM de piruvato sódico (número de artículo de Cytion 820300a)**Supplements**

Complementar el medio con un 20% de FBS

Dissociation Reagent

Accutase

Seeding density $2-4 \times 10^4 / \text{cm}^2$ **Fluid renewal**

2 veces por semana

Células SRA01-04 | 305436

Freeze medium

Como medio de criopreservación, utilizamos el medio de crecimiento completo (incluido FBS) + 10% DMSO para una viabilidad adecuada tras la descongelación, o CM-1 (número de catálogo 800100 de Cytion), que incluye osmoprotectores optimizados y estabilizadores metabólicos para mejorar la recuperación y reducir el estrés crioinducido.

Thawing and Culturing Cells

1. Confirme que el vial permanece profundamente congelado en el momento de la entrega, ya que las células se envían en hielo seco para mantener temperaturas óptimas durante el transporte.
2. Tras la recepción, almacene el criovial inmediatamente a temperaturas inferiores a -150°C para garantizar la conservación de la integridad celular, o proceda al paso 3 si se requiere el cultivo inmediato.
3. Para el cultivo inmediato, descongele rápidamente el vial sumergiéndolo en un baño de agua a 37°C con agua limpia y un agente antimicrobiano, agitando suavemente durante 40-60 segundos hasta que quede un pequeño grumo de hielo.
4. Realice todos los pasos siguientes en condiciones estériles en una campana de flujo, desinfectando el criovial con etanol al 70% antes de abrirlo.
5. Abrir con cuidado el vial desinfectado y transferir la suspensión celular a un tubo de centrifuga de 15 ml que contenga 8 ml de medio de cultivo a temperatura ambiente, mezclando suavemente.
6. Centrifugar la mezcla a 300 x g durante 3 minutos para separar las células y desechar cuidadosamente el sobrenadante que contiene medio de congelación residual.
7. Resuspender suavemente el sedimento celular en 10 ml de medio de cultivo fresco. Para las células adherentes, dividir la suspensión entre dos matraces de cultivo T25; para los cultivos en suspensión, transferir todo el medio a un matraz T25 para promover la interacción y el crecimiento celular efectivos.
8. Siga los protocolos de subcultivo establecidos para el crecimiento y mantenimiento continuos de la línea celular, garantizando resultados experimentales fiables.

Incubation Atmosphere

37°C, 5%_{CO2}, atmósfera humidificada.

Shipping Conditions

Las líneas celulares crioconservadas se envían en hielo seco en envases validados y aislados con suficiente refrigerante para mantener aproximadamente -78 °C durante el tránsito. A la recepción, inspeccione el envase inmediatamente y transfiera los viales sin demora al almacenamiento adecuado.

Células SRA01-04 | 305436

Storage Conditions

Para la conservación a largo plazo, colocar los viales en nitrógeno líquido en fase vapor a una temperatura aproximada de -150 a -196 °C. El almacenamiento a -80 °C sólo es aceptable como breve paso intermedio antes de la transferencia al nitrógeno líquido.

Control de calidad y análisis molecular

Sterility

La contaminación por micoplasma se excluye utilizando tanto ensayos basados en la PCR como métodos de detección de micoplasma basados en la luminiscencia.

Para garantizar la ausencia de contaminación bacteriana, fúngica o por levaduras, los cultivos celulares se someten a inspecciones visuales diarias.