

Células SRA01-04 | 305436**Informações gerais****Description**

A linha celular SRA01/04 é uma linha celular epitelial do cristalino humano imortalizada, desenvolvida para superar as limitações associadas às culturas primárias de células epiteliais do cristalino humano (HLE). Estas limitações incluem a sua baixa capacidade proliferativa e a dificuldade em obter quantidades suficientes de células a partir dos cristais de doadores. A SRA01/04 foi derivada de células HLE primárias obtidas de bebés submetidos a cirurgia para retinopatia da prematuridade. A imortalização foi alcançada através da transfecção com um plasmídeo portador do gene do antígeno T grande do SV40, sob o controlo do promotor RSV. Esta abordagem evita a utilização de vírus vivos e permite a seleção de um clone uniforme com características consistentes.

As células SRA01/04 apresentam uma proliferação estável ao longo de 130 passagens, com um nível de duplicação da população de aproximadamente 3,5 por passagem. Morfologicamente, mantêm uma monocamada com características epiteliais. A análise cromossómica revelou um cariótipo hipotetraplóide, consistente com o estado de imortalização. O fenótipo isoenzimático confirmou a sua origem humana. É importante referir que a linha celular mantém características moleculares específicas do cristalino, incluindo a expressão das cristalinas α A e β B e da aldose redutase, embora a níveis proteicos inferiores aos observados em culturas primárias de HLE. O ARNm de ambas as cristalinas foi também detetado por RT-PCR, e o sequenciamento confirmou uma identidade de 100% com sequências humanas publicadas. Isto torna a SRA01/04 a primeira linha celular de cristalino humano estabelecida que se demonstrou expressar tanto as cristalinas α A como as β B.

Para além da expressão de cristalinas, a SRA01/04 expressa aldose redutase, uma enzima envolvida na via dos polióis, que é relevante para a cataractogénese. Embora o crescimento ideal exija 20% de soro fetal bovino, as células conseguem sobreviver e proliferar com níveis reduzidos de soro ou mesmo em condições isentas de soro, se previamente fixadas em placas de cultura. Esta adaptabilidade, juntamente com o seu fenótipo estável específico do cristalino, torna a SRA01/04 um modelo valioso para o estudo da fisiologia do cristalino, da regulação genética no epitélio do cristalino e dos mecanismos subjacentes à formação da catarata.

Organism

Humano

Tissue

Olho, cristalino, epitélio

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)

Caraterísticas**Age**

3 meses

Gender

Masculino

Morphology

De tipo epitelial

Cell type

Lente ocular

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

Aderente

Dados regulamentares**Citation**

SRA01-04 (número de catálogo da Cytion 305436)

Biosafety level

1

NCBI_TaxID

9606

CellosaurusAccession

CVCL_7157

GMO Status

GMO-S1: Esta linha celular epitelial do cristalino humano SRA01-04 contém uma construção do antígeno T grande do SV40, que permite a investigação sobre o cristalino ocular. Esta classificação aplica-se apenas na Alemanha e pode diferir noutros países.

Dados biomoleculares**Protein expression**

Integração genética: Método = Transfecção; Gene = UniProtKB; P03070; Antígeno T grande do SV40

Isoenzymes

LD, NP

Manuseamento**Culture Medium**DMEM, com: 4,5 g/L de glucose, com: 4 mM de L-Glutamina, com: 3,7 g/L de NaHCO₃, com: 1,0 mM de piruvato de sódio (número de artigo Cytion 820300a)**Supplements**

Completar o meio com 20% de FBS

Dissociation Reagent

Accutase

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

2 vezes por semana

Células SRA01-04 | 305436

Freeze medium

Como meio de criopreservação, utilizamos um meio de crescimento completo (incluindo FBS) + 10% DMSO para uma viabilidade pós-descongelamento adequada, ou CM-1 (número de catálogo Cytion 800100), que inclui osmoprotectores otimizados e estabilizadores metabólicos para melhorar a recuperação e reduzir o stress induzido pela crio.

Thawing and Culturing Cells

1. Confirme que o frasco permanece profundamente congelado aquando da entrega, uma vez que as células são enviadas em gelo seco para manter as temperaturas ideais durante o transporte.
2. Após a receção, armazenar o frasco criogénico imediatamente a temperaturas inferiores a -150°C para garantir a preservação da integridade celular, ou avançar para o passo 3 se for necessária uma cultura imediata.
3. Para uma cultura imediata, descongelar rapidamente o frasco imergindo-o num banho de água a 37°C com água limpa e um agente antimicrobiano, agitando suavemente durante 40-60 segundos até ficar um pequeno aglomerado de gelo.
4. Efetuar todos os passos subsequentes em condições estéreis numa capela de fluxo, desinfetando o frasco criogénico com etanol a 70% antes de o abrir.
5. Abrir cuidadosamente o frasco desinfetado e transferir a suspensão de células para um tubo de centrifugação de 15 ml contendo 8 ml de meio de cultura à temperatura ambiente, misturando suavemente.
6. Centrifugar a mistura a 300 x g durante 3 minutos para separar as células e eliminar cuidadosamente o sobrenadante que contém o meio de congelação residual.
7. Ressuspender suavemente o pellet de células em 10 ml de meio de cultura fresco. No caso de células aderentes, dividir a suspensão entre dois frascos de cultura T25; no caso de culturas em suspensão, transferir todo o meio para um frasco T25 para promover uma interação e um crescimento eficazes das células.
8. Cumprir os protocolos de subcultura estabelecidos para o crescimento e manutenção contínuos da linha celular, garantindo resultados experimentais fiáveis.

Incubation Atmosphere

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

Shipping Conditions

As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente -78 °C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

Células SRA01-04 | 305436

Storage Conditions

Para conservação a longo prazo, colocar os frascos em azoto líquido em fase de vapor a uma temperatura entre -150 e -196 °C. O armazenamento a -80 °C é aceitável apenas como um curto passo intermédio antes da transferência para azoto líquido.

Controlo de Qualidade e Análise Molecular

Sterility

A contaminação por micoplasma é excluída utilizando ensaios baseados em PCR e métodos de deteção de micoplasma baseados em luminescência.

Para garantir que não há contaminação bacteriana, fúngica ou de leveduras, as culturas de células são sujeitas a inspeções visuais diárias.