

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

La línea celular SRA01/04 es una línea celular epitelial del cristalino humano inmortalizada, desarrollada para superar las limitaciones asociadas con los cultivos primarios de células epiteliales del cristalino humano (HLE). Estas limitaciones incluyen su baja capacidad proliferativa y la dificultad para obtener cantidades suficientes de células a partir de los cristales de los donantes. La línea SRA01/04 se derivó de células HLE primarias obtenidas de bebés sometidos a cirugía por retinopatía del prematuro. La inmortalización 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, lo cual concuerda con su estado de inmortalización. El fenotipo de isoenzimas 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 más bajos que 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 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 SRA01/04 expresa aldosa reductasa, una enzima involucrada en la vía de los polioles, que es relevante para la cataractogénesis. Si bien el crecimiento óptimo 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 adhieren previamente a los platos de cultivo. Esta adaptabilidad, junto con su fenotipo estable específico del cristalino, convierte a la 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 normativos

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 se aplica únicamente 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

Culture Medium	DMEM, p/v: 4,5 g/L de glucosa, p/v: 4 mM de L-glutamina, p/v: 3,7 g/L de NaHCO ₃ , p/v: 1,0 mM de piruvato de sodio (número de artículo de Cytion 820300a)
-----------------------	---

Supplements	Añade al medio un 20 % de FBS
--------------------	-------------------------------

Dissociation Reagent	Accutase
-----------------------------	----------

Seeding density	2-4*10 ⁴ /cm ²
------------------------	--------------------------------------

Fluid renewal	2 veces por semana
----------------------	--------------------

Células SRA01-04 | 305436

Freeze medium

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

Thawing and Culturing Cells

1. Verifique que el vial se mantenga profundamente congelado al momento de la entrega, ya que las células se envían en hielo seco para mantener temperaturas óptimas durante el transporte.
2. Al recibirlo, almacene el criovial inmediatamente a temperaturas inferiores a -150 °C para garantizar la preservación de la integridad celular, o bien continúe con el paso 3 si se requiere un 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 a 60 segundos hasta que quede un pequeño trozo de hielo.
4. Realice todos los pasos posteriores en condiciones estériles bajo una cabina de flujo laminar, desinfectando el criovial con etanol al 70 % antes de abrirlo.
5. Abra con cuidado el vial desinfectado y transfiera 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. Centrifugue la mezcla a 300 x g durante 3 minutos para separar las células y deseche con cuidado el sobrenadante que contenga medio de congelación residual.
7. Resuspende suavemente el sedimento celular en 10 ml de medio de cultivo fresco. Para las células adherentes, divide la suspensión entre dos frascos de cultivo T25; para los cultivos en suspensión, transfiere todo el medio a un solo frasco T25 para promover una interacción y un crecimiento celular efectivos.
8. Siga los protocolos de subcultivo establecidos para el crecimiento y mantenimiento continuos de la línea celular, asegurando resultados experimentales confiables.

Incubation Atmosphere

37 °C, 5 % de CO₂, atmósfera humidificada.

Shipping Conditions

Las líneas celulares criopreservadas se envían en hielo seco, en un embalaje aislante validado que contiene suficiente refrigerante para mantener una temperatura de aproximadamente -78 °C durante todo el transporte. Al recibir el envío, revise el contenedor de inmediato y traslade los viales sin demora al lugar de almacenamiento adecuado.

Células SRA01-04 | 305436

Storage Conditions

Para la conservación a largo plazo, coloque los viales en nitrógeno líquido en fase de vapor a una temperatura de entre -150 y -196 °C, aproximadamente. El almacenamiento a -80 °C solo es aceptable como un paso intermedio breve antes de transferirlos al nitrógeno líquido.

Control de calidad y análisis molecular

Sterility

Se descarta la contaminación por micoplasmas mediante ensayos basados en PCR y métodos de detección de micoplasmas basados en luminiscencia.

Para garantizar que no haya contaminación bacteriana, fúngica o por levaduras, los cultivos celulares se someten a inspecciones visuales diarias.