

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

A linhagem celular SRA01/04 é uma linhagem de células epiteliais do cristalino humano imortalizadas, desenvolvida para superar as limitações associadas às culturas primárias de células epiteliais do cristalino humano (HLE). Essas limitações incluem sua baixa capacidade proliferativa e a dificuldade de obter quantidades suficientes de células a partir dos cristais de doadores. A SRA01/04 foi derivada de células HLE primárias obtidas de bebês submetidos a cirurgia para retinopatia da prematuridade. A imortalização foi alcançada por transfecção com um plasmídeo portador do gene do antígeno T grande do SV40, sob o controle do promotor RSV. Essa abordagem evita o uso de vírus vivo e permite a seleção de um clone uniforme com características consistentes.

As células SRA01/04 apresentam proliferação estável ao longo de 130 passagens, com um nível de duplicação populacional de aproximadamente 3,5 por passagem. Morfologicamente, elas mantêm uma monocamada com características epiteliais. A análise cromossômica revelou um cariótipo hipotetraplóide, consistente com o status de imortalização. O fenótipo isoenzimático confirmou sua origem humana. É importante ressaltar que a linhagem celular mantém características moleculares específicas do cristalino, incluindo a expressão das cristalinas αA e βB e da aldose redutase, embora em níveis proteicos mais baixos do que os observados em culturas primárias de HLE. O mRNA de ambas as cristalinas também foi detectado por meio de RT-PCR, e o sequenciamento confirmou 100% de identidade com sequências humanas publicadas. Isso torna a SRA01/04 a primeira linhagem celular de cristalino humano estabelecida que demonstrou expressar tanto as cristalinas αA quanto as βB .

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

Organism

Humano

Tissue

Olho, lente ocular, 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)

Características**Age**

3 meses

Gender

Masculino

Morphology

De tipo epitelial

Cell type

Lente ocular

Células SRA01-04 | 305436

Growth properties	Aderente
--------------------------	----------

Dados regulatórios

Citation	SRA01-04 (número de catálogo da Cytion 305436)
-----------------	--

Biosafety level	1
------------------------	---

NCBI_TaxID	9606
-------------------	------

CellosaurusAccession	CVCL_7157
-----------------------------	-----------

GMO Status	GMO-S1: Esta linhagem epitelial do cristalino humano SRA01-04 contém uma construção do antígeno T grande do SV40, permitindo a realização de pesquisas sobre o cristalino ocular. Essa classificação se aplica apenas na Alemanha e pode ser diferente em outros países.
-------------------	--

Dados biomoleculares

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

Isoenzymes	LD, NP
-------------------	--------

Manuseio

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

Supplements	Adicione 20% de FBS ao meio
--------------------	-----------------------------

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

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

Fluid renewal	2 vezes por semana
----------------------	--------------------

Células SRA01-04 | 305436

Freeze medium

Como meio de criopreservação, utilizamos meio de crescimento completo (incluindo FBS) + 10% de DMSO para garantir viabilidade adequada após o descongelamento, ou CM-1 (número de catálogo da Cytion 800100), que inclui osmoprotetores e estabilizadores metabólicos otimizados para melhorar a recuperação e reduzir o estresse induzido pela criopreservação.

Thawing and Culturing Cells

1. Verifique se o frasco permanece profundamente congelado no momento da entrega, pois as células são enviadas em gelo seco para manter as temperaturas ideais durante o transporte.
2. Após o recebimento, armazene o criovial imediatamente a temperaturas abaixo de -150 °C para garantir a preservação da integridade celular ou prossiga para a etapa 3, caso seja necessária a cultura imediata.
3. Para cultura imediata, descongele rapidamente o frasco imergindo-o em um banho-maria a 37 °C com água limpa e um agente antimicrobiano, agitando suavemente por 40 a 60 segundos até que reste apenas um pequeno pedaço de gelo.
4. Realize todas as etapas subsequentes em condições estéreis em uma cabine de fluxo, desinfetando o criovial com etanol a 70% antes de abri-lo.
5. Abra cuidadosamente o frasco desinfetado e transfira a suspensão celular para um tubo de centrífuga de 15 ml contendo 8 ml de meio de cultura à temperatura ambiente, misturando delicadamente.
6. Centrifugue a mistura a 300 x g por 3 minutos para separar as células e descarte cuidadosamente o sobrenadante contendo o meio de congelamento residual.
7. Ressuspender suavemente o sedimento celular em 10 ml de meio de cultura fresco. Para células aderentes, dividir a suspensão entre dois frascos de cultura T25; para culturas em suspensão, transferir todo o meio para um frasco T25 a fim de promover a interação e o crescimento celular eficazes.
8. Siga os protocolos de subcultura estabelecidos para o crescimento contínuo e a manutenção da linhagem celular, garantindo resultados experimentais confiáveis.

Incubation Atmosphere

37 °C, 5% de CO₂, atmosfera umidificada.

Shipping Conditions

As linhagens celulares criopreservadas são enviadas em gelo seco, em embalagens isoladas e validadas, com refrigerante suficiente para manter a temperatura em aproximadamente -78 °C durante todo o transporte. Ao receber a remessa, inspecione o recipiente imediatamente e transfira os frascos sem demora para o local de armazenamento adequado.

Células SRA01-04 | 305436

Storage Conditions

Para preservação a longo prazo, coloque os frascos em nitrogênio líquido em fase de vapor a uma temperatura entre aproximadamente -150 e -196 °C. O armazenamento a -80 °C é aceitável apenas como uma etapa intermediária de curta duração antes da transferência para o nitrogênio líquido.

Controle de Qualidade e Análise Molecular

Sterility

A contaminação por micoplasma é descartada por meio de ensaios baseados em PCR e de métodos de detecção de micoplasma baseados em luminescência.

Para garantir que não haja contaminação por bactérias, fungos ou leveduras, as culturas celulares são submetidas a inspeções visuais diárias.