SRA01-04

305436

GENERAL INFORMATION

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.

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)

CLASSIFICATION

Organism	Human
Sex	Male
Growth properties	Adherent
GMO status	GMO-S1

GMO status details

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.

Biosafety level	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

CHARACTERISTICS

Morphology	De tipo epitelial
Cell type	Lente ocular

IDENTIFIERS

Citation

SRA01-04 (número de catálogo da Cytion 305436)

NCBI TaxID	9606
Cellosaurus	CVCL_7157

EXPRESSION AND SUSCEPTIBILITY

Protein expression

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

Isoenzymes

LD, NP

HANDLING AND CULTURE

Culture medium

DMEM com baixo teor de glicose

Incubation atmosphere	37 °C, 5% de CO_2, atmosfera umidificada.

Supplements

Adicione 10% de FBS ao meio

Dissociation reagent	Accutase
Seeding density	2-4*10^4/cm^2
Fluid renewal	2 vezes por semana

Thawing and culturing

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.

QUALITY CONTROL AND CRYOPRESERVATION

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.

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.

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.

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.

DONOR

Donor age	3 meses

LEGAL AND SAFETY

Safety precautions

Ao planejar o armazenamento de um criotubo em nitrogênio líquido para descongelamento futuro, é obrigatório seguir medidas de segurança rigorosas. É essencial o uso de luvas e roupas de proteção adequadas, além do uso obrigatório de máscara facial ou óculos de proteção durante a transferência de amostras congeladas para dentro ou para fora do tanque de nitrogênio líquido. Isso visa mitigar o risco de ferimentos decorrentes de possíveis explosões dos criotubos durante a remoção, o que pode resultar na projeção de fragmentos pontiagudos.

Warranty

Na Cytion, garantimos a qualidade e a viabilidade de nossos produtos.
Garantimos que nossas células permanecerão viáveis no início da cultura por
60 dias após o envio de nossas instalações.
Asseguramos que todos os materiais estão em conformidade com as especificações descritas no
Certificado de Análise e/ou na Ficha Técnica do Produto.
Para obter todos os detalhes, consulte nossa
Declaração de Garantia.

Material Transfer Agreement required	Yes