

661w buňky | 305889

Obecné informace

Description

661W je buněčná linie odvozená z fotoreceptorů kužele myši, původně vytvořená z nádoru sítnice vzniklého u transgenní myši exprimující velký T antigen opičího viru 40 (SV40) pod kontrolou promotoru lidského interfotoreceptorového retinoid-vazebného proteinu (IRBP). Linie byla vytvořena z postnatálních explantátů sítnice a představuje imortalizované prekurzory fotoreceptorů čípků. Buňky 661W vykazují adhezivní růst a jsou rutinně udržovány v Dulbeccově modifikovaném Eagleově médiu doplněném fetálním bovinním sérem za standardních kultivačních podmínek. Jsou široce používány jako in vitro model fotoreceptorů čípků, zejména ve studiích poškození vyvolaného světlem, oxidačního stresu, apoptózy a degenerativních mechanismů sítnice.

Molekulární a transkriptomická charakterizace potvrzuje, že buňky 661W exprimují většinu markerů fotoreceptorů čípků, včetně opsinu čípků a genů spojených s fototransdukcí. Studie s vysokým rozlišením ukazují, že tyto buňky tvoří primární řasinky se strukturálními rysy připomínajícími řasinky spojující fotoreceptory a vnější segmenty. Imunocytochemické a ultrastrukturální analýzy odhalují lokalizaci ciliárních proteinů v axonému, membráně a přechodové zóně, což podporuje jejich užitečnost při výzkumu ciliopatií sítnice. Funkční studie ukázaly, že siRNA-zprostředkovaný knockdown genů intraflagelárního transportu, jako je Ift88, vede ke ztrátě řasinek, což potvrzuje, že 661W je vhodný systém pro mechanistické studie biologie řasinek.

Buňky 661W jsou vysoce citlivé na fotooxidativní stres. Vystavení viditelnému světlu indukuje apoptotickou buněčnou smrt spojenou s downregulací aktivity NF-κB a aktivací kaspázových drah. Nadměrná exprese antiapoptotických proteinů, jako je Bcl-2, konferuje odolnost vůči světlem indukované apoptóze, udržuje jadernou aktivitu NF-κB a zlepšuje přežití buněk. Tyto vlastnosti činí z 661W robustní model pro rozbor molekulárních drah, které jsou základem degenerace fotoreceptorů. Je důležité poznamenat, že linie 661W byla také zapojena do historických případů nesprávné identifikace buněčných linií, včetně křížové kontaminace s linií RGC-5, což podtrhuje nutnost přísné autentizace při použití tohoto modelu. Celkově poskytuje 661W dobře charakterizovanou platformu myších fotoreceptorů pro studium degenerace sítnice, reakcí na oxidační stres, funkce řasinek a terapeutických intervencí zaměřených na přežití fotoreceptorů.

Organism Myš

Tissue Oko, sítnice

Synonyms 661w, 661 W

Charakteristika

Age Věk nespecifikován

Gender Muži

Cell type Čípková buňka sítnice

Growth properties Adherentní

661w buňky | 305889

Regulační údaje

Citation	661W (katalogové číslo Cytion 305889)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	10090
CellosaurusAccession	CVCL_6240

Biomolekulární data

Zpracování

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/l glukózy, w: 4 mM L-glutaminu, w: 3,7 g/l NaHCO ₃ , w: 1,0 mM pyruvátu sodného (číslo výrobku Cytion 820300a)
Supplements	Doplňte médium o 10% FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	~24 hodin
Freeze medium	Jako kryokonzervační médium používáme kompletní růstové médium + 10% DMSO pro zajištění dostatečné životaschopnosti po rozmrazení.

661w buňky | 305889

Thawing and Culturing Cells

1. Ověřte si, že lahvička zůstane při dodání hluboce zmrazená, protože buňky se přepravují na suchém ledu, aby se během přepravy udržely optimální teploty.
2. Po obdržení buď okamžitě uložte kryovialku při teplotě nižší než -150 °C, abyste zajistili zachování buněčné integrity, nebo přejděte ke kroku 3, pokud je nutná okamžitá kultivace.
3. Pro okamžitou kultivaci rychle rozmrazte lahvičku ponořením do vodní lázně o teplotě 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálním prostředkem a jemně ji míchejte po dobu 40-60 sekund, dokud nezůstane malý ledový chuchvalec.
4. Všechny další kroky provádějte za sterilních podmínek v průtokové digestoři a před otevřením kryovialku dezinfikujte 70% ethanolem.
5. Opatrně otevřete dezinfikovanou lahvičku a přeneste buněčnou suspenzi do 15 ml centrifugační zkumavky obsahující 8 ml kultivačního média o pokojové teplotě a jemně promíchejte.
6. Směs odstředujte při 200 x g po dobu 5 minut, supernatant obsahující mrazicí médium opatrně zlikvidujte.
7. Postupujte podle postupu popsaneho v části Obnova po rozmrazení

Incubation Atmosphere

37 °C, 5 %_{CO2}, zvlhčená atmosféra.

Flask Coating

Žádný

Shipping Conditions

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

Storage Conditions

Pro dlouhodobé uchování umístěte lahvičky do kapalného dusíku v plynné fázi při teplotě přibližně -150 až -196 °C. Skladování při -80 °C je přijatelné pouze jako krátký přechodný krok před přemístěním do kapalného dusíku.

Kontrola kvality / Genetický profil / HLA