

## 661w rakud | 305889

## Üldine teave

## Description

661W on hiire koonusfotoretseptorist pärinev rakuliin, mis on algselt loodud transgeense hiire võrkkesta kasvajas, mis ekspresseerib simian viiruse 40 (SV40) suurt T-antigeeni inimese fotoretseptoritevahelise retinoidide siduva valgu (IRBP) promotori kontrolli all. Liin loodi sünnijärgsete võrkkesta eksplantaatidest ja esindab surematuid koonusfotoretseptorite eellasi. 661W rakud näitavad adhesiivset kasvu ja neid hoitakse tavaliselt Dulbecco modifitseeritud Eagle'i keskkonnas, millele on lisatud loote veise seerum standardse kultiveerimise tingimustes. Neid on laialdaselt kasutatud koonusfotoretseptorite in vitro mudelina, eriti valguse poolt indutseeritud kahjustuste, oksüdatiivse stressi, apoptoosi ja võrkkesta degeneratiivsete mehhanismide uuringutes.

Molekulaarne ja transkriptomiline iseloomustus kinnitab, et 661W rakud ekspresseerivad enamikku koonusfotoretseptorite markereid, sealhulgas koonusopsine ja fototransduksiooniga seotud gene. Kõrge resolutsiooniga pildistamisuuringud näitavad, et need rakud moodustavad primaarse tsilia, mille struktuurilised omadused meenutavad fotoretseptori ühendavat tsiliat ja välissegmente. Immunotsütokeemilised ja ultrastruktuurilised analüüsid näitavad tsiliaarvalkude lokaliseerumist aksonemile, membraanile ja üleminekutsoonile, mis toetab nende kasulikkust võrkkesta tsiliaarhaiguste uurimisel. Funktsionaalsed uuringud on näidanud, et siRNA-vahendatud intraflagellaarse transpordi geenide, nagu Ift88, knock-down viib tsiliaaride kadumiseni, mis kinnitab 661W sobivust tsiliaarbioloogia mehhanistlike uuringute jaoks.

661W rakud on väga tundlikud fotooksideeriva stressi suhtes. Nähtava valguse mõju indutseerib apoptootilist rakusurma, mis on seotud NF- $\kappa$ B aktiivsuse allareguleerimise ja kaspasi radade aktiveerimisega. Apoptoosi pärssivate valkude, nagu Bcl-2, üleväljendamine annab vastupidavuse valguse poolt indutseeritud apoptoosile, säilitades NF- $\kappa$ B tuuma aktiivsuse ja parandades rakkude ellujäämist. Need omadused muudavad 661W tugevaks mudeliks fotoretseptorite degeneratsiooni aluseks olevate molekulaarsete radade analüüsimiseks. Tähtis on märkida, et 661W liin on olnud seotud ka varasemate rakkude liinide valesti identifitseerimise juhtumitega, sealhulgas RGC-5 liini ristsaastumisega, mis rõhutab selle mudeli kasutamisel rangete autentimise vajadust. Kokkuvõttes pakub 661W hästi iseloomustatud hiire koonusfotoretseptori platvormi võrkkesta degeneratsiooni, oksüdatiivse stressi reaktsioonide, tsiliaarfunktsiooni ja koonuste ellujäämist sihtivate terapeutiliste sekkumiste uurimiseks.

**Organism** Hiir

**Tissue** Silm, võrkkestad

**Synonyms** 661w, 661 W

## Omadused

**Age** Täpsustamata vanus

**Gender** Mees

**Cell type** Võrkkesta koonusrakk

## 661w rakud | 305889

**Growth properties** Kinnipeetav

### Regulatiivsed andmed

**Citation** 661W (Cytioni katalooginumber 305889)

**Biosafety level** 1

**NCBI\_TaxID** 10090

**CellosaurusAccession** CVCL\_6240

### Biomolekulaarsed andmed

### Töötlemine

**Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/L glükoosi, w: 4 mM L-glutamiini, w: 3,7 g/L NaHCO<sub>3</sub>, w: 1,0 mM naatriumpüruvaati (Cytioni artikli number 820300a)

**Supplements** Täiendada söötme 10% FBS-ga

**Dissociation Reagent** Accutase

**Doubling time** ~24 tundi

**Freeze medium** Krüosäilitusvedelikuna kasutame täielikku kasvukeskkonda + 10% DMSO, et tagada piisav elujõulisus pärast sulatamist.

## 661w rakud | 305889

### Thawing and Culturing Cells

1. Veenduge, et vial jääb tarnimisel sügavkülmutatud, sest rakud transporditakse kuiva jääga, et säilitada optimaalne temperatuur transpordi ajal.
2. Pärast kättesaamist säilitage krüoviaal kas kohe temperatuuril alla  $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ , et tagada rakkude terviklikkuse säilimine, või jätkake sammuga 3, kui on vaja koheselt kultiveerida.
3. Kohese kultiveerimise korral sulatage vial kiiresti, kastes selle  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$  veevanni puhta vee ja antimikroobse ainega, segades seda õrnalt 40-60 sekundit, kuni alles jääb väike jääklomp.
4. Tehke kõik järgmised toimingud steriilsetes tingimustes vooluhoodis, desinfitseerides krüoviaal enne avamist 70% etanooliga.
5. Avage desinfitseeritud vial ettevaatlikult ja viige rakususpensioon ettevaatlikult segades 15 ml tsentrifuugitorusse, mis sisaldab 8 ml toatemperatuuril olevat kasvukeskkonda.
6. Tsentrifuugige segu 5 minutit  $200\text{ x g}$  juures, visake ettevaatlikult ära külmutusvedelikku sisaldav supernatant.
7. Järgige punktis "Taastamisjärgne taastamine" kirjeldatud menetlust

### Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$  niisutatud atmosfäär.

### Flask Coating

Puudub

### Shipping Conditions

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

### Storage Conditions

Pikaajaliseks säilitamiseks asetage vialid aurufaasis vedela lämmastikuga umbes  $-150$  kuni  $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$  juures. Säilitamine temperatuuril  $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$  on vastuvõetav ainult lühikese vaheetapina enne vedela lämmastikuga üleviimist.

## Kvaliteedikontroll / Geneetiline profiil / HLA