

661w cellák | 305889

Általános információk

Description

A 661W egy egér kúpos fotoreceptorokból származó sejtvonal, amelyet eredetileg egy transzgenikus egér retinális tumorából hoztak létre, amely a humán interfotoreceptor retinoid-kötő fehérje (IRBP) promóter irányítása alatt expresszálja a simian vírus 40 (SV40) nagy T antigént. A vonalat posztnatális retinális explantátumokból állították elő, és halhatatlan kúpos fotoreceptor-elősejteket képvisel. A 661W sejtek adhezív növekedést mutatnak, és standard tenyésztési körülmények között, magzati borjú szérummal kiegészített Dulbecco-féle módosított Eagle-táptalajon tartják őket. Széles körben használják őket kúpos fotoreceptorok in vitro modelljeként, különösen a fény által kiváltott károsodás, az oxidatív stressz, az apoptózis és a retinális degeneratív mechanizmusok tanulmányozásában.

A molekuláris és transzkriptomikus jellemzés megerősíti, hogy a 661W sejtek a kúpos fotoreceptorok markereinek többségét expresszálják, beleértve a kúpos opszinokat és a fototranszdukcióval kapcsolatos géneket. A nagy felbontású képkalkító vizsgálatok kimutatták, hogy ezek a sejtek elsődleges csillókat képeznek, amelyek szerkezeti jellemzői a fotoreceptorok csillóit és külső szegmenseit idézik. Immunokémiai és ultrastrukturális elemzések kimutatták a csillós fehérjék lokalizációját az axonémában, a membránban és az átmeneti zónában, alátámasztva azok hasznosságát a retinális csillós betegségek vizsgálatában. Funkcionális vizsgálatok kimutatták, hogy az intraflagelláris transzport gének, például az Ift88 siRNA-mediált lecsökkentése a csillók elvesztéséhez vezet, igazolva a 661W-t mint kezelhető rendszert a csillós biológia mechanisztikus vizsgálataihoz.

A 661W sejtek rendkívül érzékenyek a fotooxidatív stresszre. A látható fénynek való kitettség apoptotikus sejthalált indukál, amely az NF-κB aktivitás lecsökkenésével és a kaspáz útvonalak aktiválódásával jár. Az anti-apoptotikus fehérjék, például a Bcl-2 túlzott expressziója ellenállást biztosít a fény által indukált apoptózisnak, fenntartva az NF-κB nukleáris aktivitását és javítva a sejtek túlélését. Ezek a tulajdonságok a 661W-t robusztus modellé teszik a fotoreceptorok degenerációjának alapjául szolgáló molekuláris útvonalak elemzéséhez. Fontos megjegyezni, hogy a 661W vonalat történelmi sejtvonal-téves azonosítási eseményekkel is összefüggésbe hozták, beleértve a RGC-5 vonallal való keresztszennyeződést, ami aláhúzza a szigorú hitelesítés szükségességét ennek a modellnek a használata során. Összességében a 661W jól jellemzett egér kúpos fotoreceptor platformot biztosít a retinális degeneráció, az oxidatív stresszreakciók, a csillós funkció és a kúpos sejtek túlélését célzó terápiás beavatkozások tanulmányozásához.

Organism Egér

Tissue Szem, retina

Synonyms 661w, 661 W

Jellemzők

Age Meghatározatlan életkor

Gender Férfi

Cell type Retinális kúpsejt

661w cellák | 305889

Growth properties Adherent

Szabályozási adatok

Citation 661W (Cytion katalógusszám: 305889)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 10090

CellosaurusAccession CVCL_6240

Biomolekuláris adatok

A kezelése

Culture Medium DMEM, w: 4,5 g/L glükóz, w: 4 mM L-Glutamin, w: 3,7 g/L NaHCO₃, w: 1,0 mM nátrium-piruvát (Cytion cikkszám 820300a)

Supplements A táptalajt egészítsük ki 10% FBS-szel

Dissociation Reagent Accutase

Doubling time ~24 óra

Freeze medium Krioprezerváló táptalajként teljes növekedési táptalajt + 10% DMSO-t használunk a megfelelő kiolvasztás utáni életképesség érdekében.

661w cellák | 305889**Thawing and
Culturing Cells**

1. Ellenőrizze, hogy az injekciós üveg a szállításkor mélyhűtött marad-e, mivel a sejteket szárazjégen szállítják, hogy a szállítás során az optimális hőmérsékletet fenntartsák.
2. Átvételt követően vagy azonnal tárolja a krioampullát -150 °C alatti hőmérsékleten a sejtek integritásának megőrzése érdekében, vagy folytassa a 3. lépéssel, ha azonnali tenyésztésre van szükség.
3. Azonnali tenyésztés esetén gyorsan fel kell olvasztani az injekciós üveget úgy, hogy tiszta vízzel és antimikrobiális szerrel ellátott 37 °C -os vízfürdőbe merítjük, és 40-60 másodpercig óvatosan kevergetjük, amíg egy kis jégcsomó nem marad.
4. Az összes további lépést steril körülmények között, áramlásos elszívóban végezzük el, és felnyitás előtt fertőtlenítsük a krioümlékét 70%-os etanollal.
5. Óvatosan nyissa fel a fertőtlenített fiolát, és a sejtuszpenziót óvatosan összekeverve helyezze át egy 15 ml-es centrifugacsőbe, amely 8 ml szobahőmérsékletű táptalajt tartalmaz.
6. Centrifugáljuk az elegyet $200 \times g$ -nél 5 percig, a fagyasztóközeget tartalmazó felülúszót óvatosan dobjuk el.
7. Kövesse a felolvasztás utáni helyreállításnál leírt eljárást

**Incubation
Atmosphere**

37 °C , 5% CO_2 , párasított légkör.

Flask Coating

Nincs

**Shipping
Conditions**

A kriokonzervált sejtvonalatokat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül -78 °C -on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

**Storage
Conditions**

Hosszú távú tartósítás céljából helyezze az üvegeket gőzfázisú folyékony nitrogénbe, körülbelül -150 és -196 °C közötti hőmérsékleten. A -80 °C -on történő tárolás csak rövid átmeneti lépésként fogadható el a folyékony nitrogénbe való átvitel előtt.

Minőségellenőrzés / Genetikai profil / HLA