

661w elementai | 305889

Bendra informacija

Description

661W yra pelės kūgio fotoreceptorių kilmės ląstelių linija, iš pradžių sukurta iš tinklainės naviko, atsiradusio transgeninėje pelėje, kuri ekspresuoja simian virus 40 (SV40) didelį T antigeną, kontroliuojamą žmogaus interfotoreceptorių retinoidų rišimosi baltymo (IRBP) promotoriaus. Linija buvo sukurta iš postnatalinių tinklainės eksplantatų ir atstovauja nemirtingus kūgio fotoreceptorių pirmtakus. 661W ląstelės pasižymi adheziniu augimu ir yra reguliariai išlaikomos Dulbecco modifikuotoje Eagle terpėje, papildytoje veršelių serumu, standartinėmis kultivavimo sąlygomis. Jos plačiai naudojamos kaip kūgio fotoreceptorių in vitro modelis, ypač tyrimuose, susijusiuose su šviesos sukeltu pažeidimu, oksidaciniu stresu, apoptoze ir tinklainės degeneraciniais mechanizmais.

Molekulinė ir transkriptomine charakteristika patvirtina, kad 661W ląstelės ekspresuoja daugumą kūginio fotoreceptoriaus žymenų, įskaitant kūginio opsino ir fototransdukcijos susijusius genus. Aukštos skiriamosios gebos vaizdavimo tyrimai rodo, kad šios ląstelės formuoja pirminius ciliarus, kurių struktūrinės savybės primena fotoreceptoriaus jungiančius ciliarus ir išorinius segmentus. Imunocitocheminės ir ultrastruktūrinės analizės atskleidžia cilių baltymų lokalizaciją aksoneme, membranoje ir pereinamojoje zonoje, patvirtindamos jų naudingumą tiriant tinklainės ciliopatijas. Funkciniai tyrimai parodė, kad siRNA mediavimas intraflagelinio transporto genų, tokių kaip Ift88, slopinimas veda prie cilių praradimo, patvirtindamas 661W kaip lengvai valdomą sistemą cilių biologijos mechanizmo tyrimams.

661W ląstelės yra labai jautrios fotooksidaciniam stresui. Poveikis matomai šviesai sukelia apoptozinę ląstelių mirtį, susijusią su NF-κB aktyvumo sumažėjimu ir kaspazės kelių aktyvacija. Antiapoptozinių baltymų, pvz., Bcl-2, perteklius suteikia atsparumą šviesos sukeltam apoptozei, išlaikydamas NF-κB branduolinį aktyvumą ir pagerindamas ląstelių išgyvenimą. Šios savybės daro 661W patikimu modeliu fotoreceptorių degeneracijos molekulinės grandinės analizėms. Svarbu pažymėti, kad 661W linija taip pat buvo susijusi su istorinėmis ląstelių linijos klaidingo identifikavimo atvejais, įskaitant kryžminį užteršimą RGC-5 linija, o tai pabrėžia griežto autentiškumo patvirtinimo būtinybę naudojant šį modelį. Apibendrinant, 661W suteikia gerai apibūdintą pelių kūginių fotoreceptorių platformą tinklainės degeneracijos, oksidacinio streso reakcijų, ciliarinės funkcijos ir terapinių intervencijų, skirtų kūginių išgyvenimui, tyrimams.

Organism Pelė

Tissue Akis, tinklainė

Synonyms 661w, 661 W

Charakteristikos

Age Amžius nenurodytas

Gender Vyras

Cell type Tinklainės kūginė ląstelė

661w elementai | 305889

Growth properties Prigludęs

Reguliavimo duomenys

Citation 661W (Cytion katalogo numeris 305889)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 10090

CellosaurusAccession CVCL_6240

Biomolekuliniai duomenys

Tvarkymas

Culture Medium DMEM, š: 4,5 g/l gliukozės, š: 4 mM L-glutamino, š: 3,7 g/l NaHCO₃, š: 1,0 mM natrio piruvato (Cytion gaminio numeris 820300a)

Supplements Papildykite terpę 10 % FBS

Dissociation Reagent Accutase

Doubling time ~24 valandos

Freeze medium Kaip kriokonservavimo terpę naudojame visišką augimo terpę + 10 % DMSO, kad būtų užtikrintas tinkamas gyvybingumas po atšildymo.

661w elementai | 305889

Thawing and Culturing Cells

1. Patikrinkite, ar pristatant buteliuką jis išlieka gerai užšaldytas, nes ląstelės gabenamos ant sauso ledo, kad gabenimo metu būtų palaikoma optimali temperatūra.
2. Gavę iš karto laikykite kriovialą žemesnėje nei $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ temperatūroje, kad užtikrintumėte ląstelių vientisumo išsaugojimą, arba pereikite prie 3 veiksmo, jei reikia nedelsiant kultivuoti.
3. Jei norite nedelsiant pradėti kultivuoti, greitai atšildykite buteliuką panardindami jį į $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ temperatūros vandens vonelę su švriu vandeniu ir antimikrobine priemone, švelniai maišydami 40-60 sekundžių, kol liks nedidelis ledo gabalėlis.
4. Visus tolesnius veiksmus atlikite steriliomis sąlygomis srauto gaubte, prieš atidarydami kriovialą dezinfekuokite jį 70 % etanoliu.
5. Atsargiai atidarykite dezinfekuotą buteliuką ir perpilkite ląstelių suspensiją į 15 ml centrifugos mėgintuvėlį, kuriame yra 8 ml kambario temperatūros mitybinės terpės, atsargiai išmaišykite.
6. Mišinį centrifuguokite 200 x g greičiu 5 minutes, atsargiai išmeskite supernatantą su šaldymo terpe.
7. Atlikite procedūrą, aprašytą skyriuje "Atkūrimas po atšildymo"

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5 % CO_2 , drėkintoje atmosferoje.

Flask Coating

Nėra

Shipping Conditions

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkeltite mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

Storage Conditions

Norėdami ilgai saugoti, įdėkite buteliukus į garų fazės skystą azotą maždaug $-150\text{--}196\text{ }^{\circ}\text{C}$ temperatūroje. Laikymas $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ temperatūroje yra priimtinas tik kaip trumpas tarpinis etapas prieš perkeliant į skystąjį azotą.

Kokybės kontrolė / Genetinis profilis / HLA