

661w šūnas | 305889

Vispārīga informācija

Description

661W ir peles konusa fotoreceptoru atvasināta šūnu līnija, kas sākotnēji izveidota no tīklenes audzēja, kas radies transgēnā pelē, kura ekspresē simian vīrusu 40 (SV40) lielā T antigēna kontrolē cilvēka starpfotoreceptoru retinoīdu saistošā proteīna (IRBP) promotora. Līnija tika izveidota no pēcdzemdību tīklenes eksplantātiem un pārstāv nemirstīgus konusa fotoreceptoru prekursorus. 661W šūnas izrāda adhezīvu augšanu un tiek regulāri uzturētas Dulbecco modificētā Eagle vidē, kas papildināta ar embrija liellopu serumu standarta kultivēšanas apstākļos. Tās ir plaši izmantotas kā konusa fotoreceptoru in vitro modelis, jo īpaši pētījumos par gaismas izraisītiem bojājumiem, oksidatīvo stresu, apoptozi un tīklenes deģeneratīvajiem mehānismiem.

Molekulārā un transkriptomiskā raksturojuma analīze apstiprina, ka 661W šūnas ekspresē lielāko daļu konusa fotoreceptoru marķieru, tostarp konusa opsinus un fototransdukcijas saistītos gēnus. Augstas izšķirtspējas attēlveidošanas pētījumi liecina, ka šīs šūnas veido primāros cilijus ar strukturālām īpašībām, kas atgādina fotoreceptoru savienojošos cilijus un ārējos segmentus. Imunocitokīmiskās un ultrastrukturālās analīzes atklāj ciliju proteīnu lokalizāciju aksonēmā, membrānā un pārejas zonā, kas apstiprina to lietderību tīklenes ciliju patoloģiju izpētē. Funkcionālie pētījumi ir parādījuši, ka siRNA mediēta intraflagellāro transporta gēnu, piemēram, Ift88, nomākšana izraisa ciliju zudumu, apstiprinot 661W kā piemērotu sistēmu ciliju bioloģijas mehānisko pētījumu veikšanai.

661W šūnas ir ļoti jutīgas pret fotooksidatīvo stresu. Saskare ar redzamo gaismu izraisa apoptozes šūnu nāvi, kas saistīta ar NF-κB aktivitātes samazināšanos un kaspāzes ceļu aktivizēšanos. Anti-apoptozes proteīnu, piemēram, Bcl-2, pārmērīga ekspresija piešķir rezistenci pret gaismas izraisītu apoptozi, uzturot NF-κB kodola aktivitāti un uzlabojot šūnu izdzīvošanu. Šīs īpašības padara 661W par stabilu modeli fotoreceptoru deģenerācijas molekulāro ceļu izpētei. Ir svarīgi atzīmēt, ka 661W līnija ir bijusi iesaistīta arī vēsturiskos šūnu līnijas nepareizas identifikācijas gadījumos, tostarp krusteniskā kontaminācijā ar RGC-5 līniju, kas uzsver nepieciešamību pēc stingras autentifikācijas, izmantojot šo modeli. Kopumā 661W nodrošina labi raksturotu peles konusa fotoreceptoru platformu tīklenes deģenerācijas, oksidatīvā stresa reakciju, cilāriju funkcijas un terapeitisko intervenču, kas vērstas uz konusa izdzīvošanu, pētīšanai.

Organism Pele

Tissue Acs, tīklene

Synonyms 661w, 661 W

Raksturojums

Age Vecums nav precizēts

Gender Vīrieši

Cell type Tīklenes čiekurveidīgās šūnas

Growth properties Adherent

661w šūnas | 305889

Normatīvie dati

Citation 661W (Cytion kataloga numurs 305889)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 10090

CellosaurusAccession CVCL_6240

Biomolekulārie dati

Darbs ar

Culture Medium DMEM, w: 4,5 g/l glikozes, w: 4 mM L-glutamīna, w: 3,7 g/l NaHCO₃, w: 1,0 mM nātrija piruvāta (Cytion izstrādājuma numurs 820300a)

Supplements Papildināt barotni ar 10% FBS

Dissociation Reagent Accutase

Doubling time ~ 24 stundas

Freeze medium Kā kriokonservēšanas barotni mēs izmantojam pilnvērtīgu augšanas barotni + 10% DMSO, lai nodrošinātu pietiekamu dzīvotspēju pēc atkausēšanas.

661w šūnas | 305889

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Pārliecinieties, ka pēc piegādes flakons paliek dziļi sasaldēts, jo šūnas tiek sūtītas uz sausā ledus, lai pārvadāšanas laikā saglabātu optimālu temperatūru.
2. Pēc saņemšanas vai nu nekavējoties uzglabāt kriovialu temperatūrā, kas zemāka par -150 °C, lai nodrošinātu šūnu integritātes saglabāšanu, vai arī turpināt 3. posmu, ja nepieciešama tūlītēja kultivēšana.
3. Tūlītējas kultivēšanas gadījumā ātri atkausējiet flakonu, iegremdējot to 37°C ūdens vannā ar tīru ūdeni un antibakteriālu līdzekli, viegli maisot 40-60 sekundes, līdz paliek neliels ledus gabaliņš.
4. Visas turpmākās darbības veiciet sterilos apstākļos plūsmas nosūcējā, pirms atvēršanas dezinficējot kriovialu ar 70% etanolu.
5. Uzmanīgi atveriet dezinficēto flakonu un pārnesiet šūnu suspensiju 15 ml centrifūgas mēģenē, kurā ir 8 ml istabas temperatūras barotnes, uzmanīgi samaisot.
6. Maisījumu centrifugē pie 200 x g 5 minūtes, virsgatavumu, kas satur sasaldēšanas barotni, uzmanīgi izmet.
7. Veikt procedūru, kas aprakstīta sadaļā "Atjaunošana pēc atkausēšanas"

**Incubation
Atmosphere**

37°C, 5% CO_2 , mitrināta atmosfēra.

Flask Coating

Neviens

**Shipping
Conditions**

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidrums daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

**Storage
Conditions**

Ilgstošai uzglabāšanai flakonus ievietojiet šķidrā slāpekļī ar tvaika fāzi aptuveni -150 līdz -196 °C temperatūrā. Uzglabāšana -80 °C temperatūrā ir pieļaujama tikai kā īss starpposms pirms pārvietošanas uz šķidro slāpekli.

Kvalitātes kontrole / Ģenētiskais profils / HLA