

ogniwa 661 W | 305889

Informacje ogólne

Description

661W to mysia linia komórkowa pochodząca z fotoreceptorów czopkowych, pierwotnie wyhodowana z guza siatkówki powstałego u myszy transgenicznej wyrażającej duży antygen T wirusa małpiego 40 (SV40) pod kontrolą promotora ludzkiego białka wiążącego retinoidy między fotoreceptorami (IRBP). Linia została wyhodowana z po urodzeniowych eksplantatów siatkówki i reprezentuje nieśmiertelne prekursorzy fotoreceptorów czopkowych. Komórki 661W wykazują przyleganie i są rutynowo hodowane w zmodyfikowanym podłożu Dulbecco's Eagle Medium uzupełnionym surowicą płodową bydlęcą w standardowych warunkach hodowli. Są one szeroko stosowane jako model in vitro fotoreceptorów czopkowych, szczególnie w badaniach nad uszkodzeniami wywołanymi światłem, stresem oksydacyjnym, apoptozą i mechanizmami degeneracji siatkówki.

Charakterystyka molekularna i transkryptomocznica potwierdza, że komórki 661W wyrażają większość markerów fotoreceptorów czopkowych, w tym opsyny czopkowe i geny związane z fototransdukcją. Badania obrazowe o wysokiej rozdzielczości wykazują, że komórki te tworzą rzęski pierwotne o cechach strukturalnych przypominających rzęski łączące fotoreceptory i segmenty zewnętrzne. Analizy immunocytochemiczne i ultrastrukturalne ujawniają lokalizację białek rzęskowych w aksonemie, błonie i strefie przejściowej, co potwierdza ich przydatność w badaniu rzęskopatii siatkówki. Badania funkcjonalne wykazały, że wyciszenie genów transportu wewnątrzrzęskowego, takich jak Ift88, za pomocą siRNA prowadzi do utraty rzęsek, co potwierdza, że komórki 661W są podatnym systemem do badań mechanistycznych biologii rzęsek.

Komórki 661W są bardzo wrażliwe na stres fotooksydacyjny. Ekspozycja na światło widzialne indukuje apoptyczną śmierć komórek związaną z obniżeniem aktywności NF-κB i aktywacją szlaków kaspaz. Nadekspresja białek antyapoptycznych, takich jak Bcl-2, nadaje odporność na apoptozę indukowaną światłem, utrzymując aktywność jądrową NF-κB i poprawiając przeżywalność komórek. Właściwości te sprawiają, że 661W jest solidnym modelem do analizy szlaków molekularnych leżących u podstaw degeneracji fotoreceptorów. Należy zauważyć, że linia 661W była również powiązana z historycznymi przypadkami błędnej identyfikacji linii komórkowych, w tym z zanieczyszczeniem krzyżowym linią RGC-5, co podkreśla konieczność rygorystycznej autentyfikacji przy stosowaniu tego modelu. Podsumowując, 661W stanowi dobrze scharakteryzowaną myszą platformę fotoreceptorów czopkowych do badania zwyrodnienia siatkówki, reakcji na stres oksydacyjny, funkcji rzęsek i interwencji terapeutycznych ukierunkowanych na przeżywalność czopków.

Organism

Mysz

Tissue

Okno, siatkówka

Metastatic site

Miejsce występowania guza pierwotnego (siatkówka)

Applications

Biologia fotoreceptorów czopkowych; indukowana światłem degeneracja siatkówki; apoptoza wywołana stresem oksydacyjnym; biologia rzęsek fotoreceptorów; modelowanie chorób zwyrodnieniowych siatkówki; badania nad szlakiem NF-κB i kaspaz; ocena leków okulistycznych

Synonyms

661w, 661 W

Charakterystyka

ogniwa 661 W | 305889

Age	Wiek nieokreślony
Gender	Męczyzna
Morphology	Podobny do fotoreceptora stożkowego
Cell type	Komórki czopkowe siatkówki
Growth properties	Adherent

Dane regulacyjne

Citation	661W (numer katalogowy Cytion 305889)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	10090
CellosaurusAccession	CVCL_6240
GMO Status	GMO-S1: Linia 661W została wyhodowana z myszy transgenicznej wyrażającej duży antygen T wirusa SV40 pod kontrolą promotora IRBP; transgen ten powoduje nieśmiertelność komórek fotoreceptorowych. Klasyfikacja ta obowiązuje wyłącznie w Niemczech i może różnić się w innych krajach.

Dane biomolekularne**Obsługa**

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/l glukozy, w: 4 mM L-glutaminy, w: 3,7 g/l NaHCO ₃ , w: 1,0 mM pirogronianu sodu (numer artykułu Cytion 820300a)
Supplements	Uzupełnić podłoże 10% FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	~24 godziny
Split ratio	od 1 do 5

ogniwa 661 W | 305889

Seeding density od 1 do 3×10^4 komórek/cm²

Fluid renewal Co 2 do 3 dni

Freeze medium Jako pożywki do kriokonserwacji używamy kompletnej pożywki wzrostowej + 10% DMSO w celu zapewnienia odpowiedniej żywotności po rozmrożeniu.

Thawing and Culturing Cells

1. Upewnij się, że fiolka pozostaje głęboko zamrożona w momencie dostawy, ponieważ komórki są wysyłane w suchym lodzie, aby utrzymać optymalną temperaturę podczas transportu.
2. Po otrzymaniu należy natychmiast przechowywać fiolkę w temperaturze poniżej -150°C, aby zapewnić zachowanie integralności komórek, lub przejść do kroku 3, jeśli wymagana jest natychmiastowa hodowla.
3. W przypadku natychmiastowej hodowli należy szybko rozmrozić fiolkę, zanurzając ją w łaźni wodnej o temperaturze 37°C z czystą wodą i środkiem przeciwdrobnoustrojowym, delikatnie mieszając przez 40-60 sekund, aż pozostanie niewielka grudka lodu.
4. Wykonaj wszystkie kolejne kroki w sterylnych warunkach w kapturze przepływowej, dezynfekując fiolkę 70% etanolem przed otwarciem.
5. Ostrożnie otworzyć zdezynfekowaną fiolkę i przenieść zawiesinę komórek do 15 ml probówki wirówkowej zawierającej 8 ml podłoża hodowlanego o temperaturze pokojowej, delikatnie mieszając.
6. Wirować mieszaninę z prędkością 200 x g przez 5 minut, ostrożnie odrzucić supernatant zawierający pożywkę do zamrażania.
7. Postępować zgodnie z procedurą opisaną w sekcji Odzyskiwanie po rozmrożeniu

Incubation Atmosphere 37°C, 5% CO₂, nawilżona atmosfera.

Flask Coating Brak

Shipping Conditions

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

ogniwa 661 W | 305889

**Storage
Conditions**

W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiołki w ciekłym azocie w fazie lotnej w temperaturze od -150 do -196 °C. Przechowywanie w temperaturze -80 °C jest dopuszczalne tylko jako krótki etap przejściowy przed przeniesieniem do ciekłego azotu.

Kontrola jakości / Profil genetyczny / HLA