

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 bydłą 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 transkryptomyczna 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 mysią platformę fotoreceptorów czopkowych do badania zwyrodnienia siatkówki, reakcji na stres oksydacyjny, funkcji rzęsek i interwencji terapeutycznych ukierunkowanych na przeżywalność czopków.

Organism Mysz

Tissue Oko, siatkówka

Synonyms 661w, 661 W

Charakterystyka

Age Wiek nieokreślony

Gender Męczyzna

Cell type Komórka stożka siatkówki

ogniwa 661 W | 305889

Growth properties Adherent

Dane regulacyjne

Citation 661W (numer katalogowy Cytion 305889)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 10090

CellosaurusAccession CVCL_6240

Dane biomolekularne

Obsługa

Culture Medium DMEM, w: 4,5 g/l glukozy, w: 4 mM L-glutaminy, w: 3,7 g/l NaHCO₃, w: 1,0 mM pirogronianu sodu (numer artykułu Cytion 820300a)

Supplements Uzupelnic podloze 10% FBS

Dissociation Reagent Accutase

Doubling time ~24 godziny

Freeze medium Jako pozywki do kriokonserwacji uzywamy kompletnej pozywki wzrostowej + 10% DMSO w celu zapewnienia odpowiedniej zywotnosci po rozmrozeniu.

ogniwa 661 W | 305889

**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 otwórz zdezynfekowaną fiolkę i przenieś zawiesinę komórek do 15 ml probówki wirówkowej zawierającej 8 ml podłoża hodowlanego o temperaturze pokojowej, delikatnie mieszając.
6. Wirować mieszaninę z prędkością $200 \times g$ 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% CO_2 , 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.

**Storage
Conditions** W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiolki 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