

**661w bunky | 305889****Všeobecné informácie****Description**

661W je bunková línia odvodená z fotoreceptorov myších čapíkov, pôvodne vytvorená z nádoru sietnice, ktorý vznikol u transgennej myši exprimujúcej veľký T antigén opičieho vírusu 40 (SV40) pod kontrolou promotora ľudského interfotoreceptorového retinoid-viažuceho proteínu (IRBP). Línia bola vytvorená z postnatálnych explantátov sietnice a predstavuje imortalizované prekursorov fotoreceptorov čapíkov. Bunky 661W vykazujú adhezívny rast a sú bežne udržiavané v Dulbeccovom modifikovanom Eagleovom médiu doplnenom fetálnym bovinným sérom za štandardných kultivačných podmienok. Sú široko používané ako in vitro model fotoreceptorov čapíkov, najmä v štúdiách poškodenia vyvolaného svetlom, oxidačného stresu, apoptózy a degeneratívnych mechanizmov sietnice.

Molekulárna a transkriptomická charakteristika potvrdzuje, že bunky 661W exprimujú väčšinu markerov fotoreceptorov čapíkov, vrátane opsínov čapíkov a génov spojených s fototransdukciou. Vysokorozlišiteľné zobrazovacie štúdie preukazujú, že tieto bunky tvoria primárne riasinky so štrukturálnymi vlastnosťami pripomínajúcimi riasinky spájajúce fotoreceptory a vonkajšie segmenty. Imunocytochemické a ultrastrukturálne analýzy odhaľujú lokalizáciu riasinkových proteínov v axonéme, membráne a prechodovej zóne, čo potvrdzuje ich užitočnosť pri skúmaní ciliopatií sietnice. Funkčné štúdie ukázali, že siRNA-mediovaný knockdown génov intraflagelárneho transportu, ako je Ift88, vedie k strate riasiniek, čo potvrdzuje 661W ako poddajný systém pre mechanistické štúdie biológie riasiniek.

Bunky 661W sú vysoko citlivé na fotooxidatívny stres. Vystavenie viditeľnému svetlu indukuje apoptotickú bunkovú smrť spojenú s downreguláciou aktivity NF- $\kappa$ B a aktiváciou kaspázových dráh. Nadmerná expresia antiapoptotických proteínov, ako je Bcl-2, poskytuje odolnosť voči apoptóze indukovanej svetlom, udržiava jadrovú aktivitu NF- $\kappa$ B a zlepšuje prežívanie buniek. Tieto vlastnosti robia z 661W robustný model na rozbor molekulárnych dráh, ktoré sú základom degenerácie fotoreceptorov. Je dôležité poznamenať, že línia 661W bola tiež zapojená do historických prípadov nesprávnej identifikácie bunkových línií, vrátane krížovej kontaminácie s líniou RGC-5, čo podčiarkuje nutnosť prísnej autentifikácie pri používaní tohto modelu. Celkovo poskytuje 661W dobre charakterizovanú platformu myších fotoreceptorov čapíkov na štúdium degenerácie sietnice, reakcií na oxidačný stres, ciliárnej funkcie a terapeutických intervencií zameraných na prežitie čapíkov.

**Organism** Myš**Tissue** Oko, sietnica**Synonyms** 661w, 661 W**Charakteristika****Age** Vek nešpecifikovaný**Gender** Muži**Cell type** Čapíkové bunky sietnice

## 661w bunky | 305889

**Growth properties** Adherent

### Regulačné údaje

**Citation** 661W (katalógové číslo Cytion 305889)

**Biosafety level** 1

**NCBI\_TaxID** 10090

**CellosaurusAccession** CVCL\_6240

### Biomolekulárne údaje

### Spracovanie

**Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/l glukózy, w: 4 mM L-glutamínu, w: 3,7 g/l NaHCO<sub>3</sub>, w: 1,0 mM pyruvátu sodného (číslo výrobku Cytion 820300a)

**Supplements** Doplňte médium o 10 % FBS

**Dissociation Reagent** Accutase

**Doubling time** ~24 hodín

**Freeze medium** Ako médium na kryokonzerváciu používame kompletne rastové médium + 10 % DMSO na zabezpečenie primeranej životaschopnosti po rozmrazení.

## 661w bunky | 305889

### Thawing and Culturing Cells

1. Overte si, že injekčná liekovka zostane pri doručení hlboko zmrazená, pretože bunky sa prepravujú na suchom ľade, aby sa počas prepravy udržala optimálna teplota.
2. Po prijatí buď okamžite uskladnite kryovialku pri teplote nižšej ako -150 °C, aby ste zabezpečili zachovanie bunkovej integrity, alebo prejdite na krok 3, ak je potrebná okamžitá kultivácia.
3. V prípade okamžitej kultivácie injekčnú liekovku rýchlo rozmrazte ponorením do vodného kúpeľa s teplotou 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálnym prostriedkom, pričom ju jemne miešajte 40 - 60 sekúnd, kým nezostane malý ľadový chumáč.
4. Všetky ďalšie kroky vykonajte v sterilných podmienkach v prietokovom digestore a pred otvorením kryovialku dezinfikujte 70 % etanolom.
5. Opatrne otvorte dezinfikovanú fľaštičku a preneste bunkovú suspenziu do 15 ml centrifugačnej skúmavky obsahujúcej 8 ml kultivačného média s izbovou teplotou a jemne premiešajte.
6. Zmes odstreďujte pri 200 x g počas 5 minút, supernatant obsahujúci zmrazovacie médium opatrne zlikvidujte.
7. Postupujte podľa postupu opísaného v časti Obnova po rozmrazení

### Incubation Atmosphere

37 °C, 5 %<sub>CO2</sub>, zvlhčená atmosféra.

### Flask Coating

Žiadne

### Shipping Conditions

Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne -78 °C počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

### Storage Conditions

Na dlhodobé uchovávanie umiestnite injekčné liekovky do kvapalnej fázy dusíka v pare pri teplote približne -150 až -196 °C. Skladovanie pri teplote -80 °C je prijateľné len ako krátky prechodný krok pred presunom do tekutého dusíka.

## Kontrola kvality / Genetický profil / HLA