

661w Kennot | 305889**Yleisiä tietoja****Description**

661W on hiiren kartion fotoreseptorista peräisin oleva solulinja, joka on alun perin perustettu verkkokalvon kasvaimesta, joka on syntynyt transgeenisessä hiiressä, joka ilmentää simian virus 40 (SV40) -viruksen suurta T-antigeeniä ihmisen interfotoreceptor retinoid-binding protein (IRBP) -promootorin ohjauksessa. Linja on tuotettu synnytyksen jälkeisistä verkkokalvon eksplanteista ja edustaa ikuistettuja kartion fotoreseptorien esiasteita. 661W-solut kasvavat adheesioina ja niitä ylläpidetään rutiininomaisesti Dulbeccon modifoidussa Eagle-elatusaineessa, johon on lisätty sikiön nautan seerumia, tavanomaisissa viljelyolosuhteissa. Niitä on käytetty laajasti kartion fotoreseptorien in vitro -mallina, erityisesti valon aiheuttamien vaurioiden, oksidatiivisen stressin, apoptoosin ja verkkokalvon degeneratiivisten mekanismien tutkimuksissa.

Molekyyl- ja transkriptominen karakterisointi vahvistaa, että 661W-solut ilmentävät suurinta osaa kartiofotoreseptorimarkkereista, mukaan lukien kartio-opsinit ja fototransduktioon liittyvät geenit. Korkean resoluution kuvantamistutkimukset osoittavat, että nämä solut muodostavat primaarisia silioita, joiden rakenteelliset piirteet muistuttavat fotoreseptorien yhdistäviä silioita ja ulkoisia segmenttejä. Immunosytokemialliset ja ultrastruktuuriset analyysit paljastavat silmäripsien proteiinien lokalisoitumisen aksonemeen, kalvoon ja siirtymävyöhykkeeseen, mikä tukee niiden käyttökelpoisuutta verkkokalvon silmäripsien sairauksien tutkimuksessa. Toiminnalliset tutkimukset ovat osoittaneet, että siRNA-välitteinen intraflagellaarisen kuljetuksen geenien, kuten Ift88:n, ilmentymisen estäminen johtaa silmäripsien menetykseen, mikä vahvistaa 661W:n käyttökelpoisuuden silmäripsien biologian mekanististen tutkimusten järjestelmänä.

661W-solut ovat erittäin herkkiä valohapettumisstressille. Altistuminen näkyvälle valolle indusoi apoptoottista solukuolemaa, joka liittyy NF-κB-aktiivisuuden alenemiseen ja kaspasireittien aktivoitumiseen. Apoptoosia estävien proteiinien, kuten Bcl-2:n, yli-ilmentyminen antaa vastustuskyvyn valon indusoimalle apoptoosille, ylläpitää NF-κB:n ydinaktiivisuutta ja parantaa solujen eloonjäämistä. Nämä ominaisuudet tekevät 661W:stä vankan mallin fotoreseptorien rappeutumisen taustalla olevien molekyylireittien tutkimiseen. On tärkeää huomata, että 661W-linja on ollut osallisena myös historiallisissa solulinjan virheellisissä tunnistustapauksissa, mukaan lukien ristikontaminaatio RGC-5-linjan kanssa, mikä korostaa tiukan autentikoinnin tarvetta tätä mallia käytettäessä. Kaiken kaikkiaan 661W tarjoaa hyvin karakterisoidun hiiren kartion fotoreseptorialustan verkkokalvon rappeutumisen, oksidatiivisen stressin vasteiden, silmäripsien toiminnan ja kartion selviytymiseen kohdistuvien terapeuttisten interventioiden tutkimiseen.

Organism Hiiri**Tissue** Silmä, verkkokalvo**Metastatic site** Ensisijainen kasvainpaikka (verkkokalvo)**Applications** Kartiofotoreseptorien biologia; valon aiheuttama verkkokalvon rappeuma; oksidatiivisen stressin aiheuttama apoptoosi; fotoreseptorien silmäripsien biologia; verkkokalvon rappeutumissairauksien mallintaminen; NF-κB- ja kaspasireittien tutkimukset; silmälääkkeiden arviointi**Synonyms** 661w, 661 W**Ominaisuudet**

661w Kennot | 305889

Age	Ikä määrittelemätön
Gender	Mies
Morphology	Kartiofotoreseptorin kaltainen
Cell type	Verkkokalvon kartiosolut
Growth properties	Tarttuva

Säätelytiedot

Citation	661W (Cytionin luettelonumero 305889)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	10090
CellosaurusAccession	CVCL_6240
GMO Status	GMO-S1: 661W-kanta on johdettu transgeenisestä hiirestä, joka ilmentää SV40-viruksen suurta T-antigeeniä IRBP-promoottorin ohjauksessa; tämä transgeeni aiheuttaa fotoreseptorikohtaisen ikuistumisen. Tämä luokitus koskee ainoastaan Saksaa, ja se voi poiketa muissa maissa.

Biomolekyylitiedot**Käsittely**

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/l glukoosia, w: 4 mM L-glutamiinia, w: 3,7 g/l NaHCO ₃ , w: 1,0 mM natriumpyruvaattia (Cytionin artikkelinumero 820300a)
Supplements	Täydennetään elatusainetta 10 %:lla FBS:llä
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	~24 tuntia
Split ratio	1-5

661w Kennot | 305889

Seeding density 1–3 × 10⁴ solua/cm²

Fluid renewal 2-3 päivän välein

Freeze medium Kryosäilytysmediaana käytämme täydellistä kasvualustaa + 10 % DMSO:ta, jotta elinkelpoisuus olisi riittävä sulatuksen jälkeen.

Thawing and Culturing Cells

1. Varmista, että injektiopullo pysyy syväjäädetyttynä toimitettaessa, sillä solut kuljetetaan kuivajäädessä, jotta optimaalinen lämpötila säilyy kuljetuksen aikana.
2. Vastaanotettaessa kryopullo joko säilytetään välittömästi alle -150 °C:n lämpötilassa solujen eheyden säilyttämiseksi tai edetään vaiheeseen 3, jos tarvitaan välitöntä viljelyä.
3. Välitöntä viljelyä varten sulata injektiopullo nopeasti upottamalla se 37 °C:n vesihauteeseen, jossa on puhdasta vettä ja mikrobilääkettä, ja sekoittamalla sitä varovasti 40-60 sekunnin ajan, kunnes jäädästä on jäljellä pieni jäämöhkäle.
4. Suorita kaikki seuraavat vaiheet steriileissä olosuhteissa virtaushupussa ja desinfioi kryopullo 70-prosenttisellä etanolilla ennen avaamista.
5. Avaa desinfioitu injektiopullo varovasti ja siirrä solususpensio 15 ml:n sentrifugiputkeen, joka sisältää 8 ml huoneenlämpöistä elatusainetta, varovasti sekoittaen.
6. Sentrifugoi seosta 200 x g:n voimakkuudella 5 minuuttia ja hävitä varovasti pakastusmediaa sisältävä supernatantti.
7. Noudatetaan kohdassa Sulattamisen jälkeinen talteenotto kuvattua menettelyä

Incubation Atmosphere 37 °C, 5 %_{CO2}, kostutettu ilmakehä.

Flask Coating Ei mitään

Shipping Conditions

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäädessä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

661w Kennot | 305889

**Storage
Conditions**

Pitkäaikaissäilytystä varten injektiopullot asetetaan höyryfaasissa olevaan nestemäiseen tyypeen noin -150 - -196 °C:een. Säilytys -80 °C:ssa on hyväksyttävää vain lyhyenä välivaiheena ennen siirtoa nestemäiseen tyypeen.

Laadunvalvonta / Geneettinen profiili / HLA