

661w Celle | 305889**Informazioni generali****Description**

661W è una linea cellulare derivata dai fotorecettori a cono murini, originariamente creata da un tumore retinico insorto in un topo transgenico che esprimeva l'antigene T grande del virus simiano 40 (SV40) sotto il controllo del promotore della proteina legante i retinoidi interfotorecettoriale umana (IRBP). La linea è stata generata da espianti retinici postnatali e rappresenta precursori immortalizzati dei fotorecettori a cono. Le cellule 661W mostrano una crescita aderente e vengono regolarmente mantenute in terreno di coltura Dulbecco modificato Eagle integrato con siero fetale bovino in condizioni di coltura standard. Sono state ampiamente utilizzate come modello in vitro dei fotorecettori a cono, in particolare negli studi sui danni indotti dalla luce, lo stress ossidativo, l'apoptosi e i meccanismi degenerativi della retina.

La caratterizzazione molecolare e trascrittomica conferma che le cellule 661W esprimono la maggior parte dei marcatori dei fotorecettori a cono, comprese le opsine a cono e i geni associati alla fototrasduzione. Studi di imaging ad alta risoluzione dimostrano che queste cellule formano ciglia primarie con caratteristiche strutturali che ricordano le ciglia di connessione dei fotorecettori e i segmenti esterni. Analisi immunocitochimiche e ultrastrutturali rivelano la localizzazione delle proteine ciliari nell'assonema, nella membrana e nella zona di transizione, a sostegno della loro utilità nello studio delle ciliopatie retiniche. Studi funzionali hanno dimostrato che il knockdown mediato da siRNA dei geni del trasporto intraflagellare come Ift88 porta alla perdita delle ciglia, convalidando 661W come sistema trattabile per studi meccanicistici sulla biologia ciliare.

Le cellule 661W sono altamente sensibili allo stress fotoossidativo. L'esposizione alla luce visibile induce la morte cellulare apoptotica associata alla downregulation dell'attività NF-κB e all'attivazione delle vie delle caspasi. La sovraespressione di proteine antiapoptotiche come Bcl-2 conferisce resistenza all'apoptosi indotta dalla luce, mantenendo l'attività nucleare NF-κB e migliorando la sopravvivenza cellulare. Queste proprietà rendono 661W un modello robusto per analizzare i percorsi molecolari alla base della degenerazione dei fotorecettori. È importante notare che la linea 661W è stata anche implicata in eventi storici di errata identificazione delle linee cellulari, tra cui la contaminazione incrociata con la linea RGC-5, sottolineando la necessità di una rigorosa autenticazione quando si utilizza questo modello. Nel complesso, la linea 661W fornisce una piattaforma ben caratterizzata di fotorecettori a cono murini per lo studio della degenerazione retinica, delle risposte allo stress ossidativo, della funzione ciliare e degli interventi terapeutici mirati alla sopravvivenza dei coni.

Organism Mouse**Tissue** Occhio, retina**Synonyms** 661w, 661 W**Caratteristiche****Age** Età non specificata**Gender** Uomo**Cell type** Cellula del cono retinico

661w Celle | 305889

Growth properties Aderente

Dati normativi

Citation 661W (numero di catalogo Cytion 305889)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 10090

CellosaurusAccession CVCL_6240

Dati biomolecolari

Manipolazione

Culture Medium DMEM, w: 4,5 g/L di glucosio, w: 4 mM di L-Glutamina, w: 3,7 g/L di NaHCO₃, w: 1,0 mM di piruvato di sodio (articolo Cytion numero 820300a)

Supplements Integrare il terreno di coltura con il 10% di FBS

Dissociation Reagent Accutase

Doubling time ~24 ore

Freeze medium Come terreno di crioconservazione, utilizziamo un terreno di crescita completo + 10% DMSO per ottenere un'adeguata vitalità post-scongelo.

661w Celle | 305889

Thawing and Culturing Cells

1. Verificare che la fiala rimanga profondamente congelata al momento della consegna, poiché le cellule vengono spedite con ghiaccio secco per mantenere le temperature ottimali durante il trasporto.
2. Al ricevimento, conservare immediatamente la criovial a temperature inferiori a -150°C per garantire la conservazione dell'integrità cellulare, oppure procedere al punto 3 se è necessaria una coltura immediata.
3. Per la coltura immediata, scongelare rapidamente la fiala immergendola in un bagno d'acqua a 37°C con acqua pulita e un agente antimicrobico, agitando delicatamente per 40-60 secondi finché non rimane un piccolo grumo di ghiaccio.
4. Eseguire tutte le fasi successive in condizioni di sterilità in una cappa a flusso, disinfettando la criovial con etanolo al 70% prima dell'apertura.
5. Aprire con cautela la fiala disinfettata e trasferire la sospensione cellulare in una provetta da centrifuga da 15 ml contenente 8 ml di terreno di coltura a temperatura ambiente, mescolando delicatamente.
6. Centrifugare la miscela a 200 x g per 5 minuti, scartando con cura il surnatante contenente il terreno di congelamento.
7. Seguire la procedura descritta in Recupero post-scongellamento

**Incubation
Atmosphere** 37°C, 5% CO_2 , atmosfera umidificata.

Flask Coating Nessuno

**Shipping
Conditions** Le linee cellulari crioconservate vengono spedite su ghiaccio secco in confezioni isolate e convalidate, con una quantità di refrigerante sufficiente a mantenere circa -78 °C durante il trasporto. Al ricevimento, ispezionare immediatamente il contenitore e trasferire immediatamente le fiale in un luogo di conservazione appropriato.

**Storage
Conditions** Per la conservazione a lungo termine, porre le fiale in azoto liquido in fase vapore a una temperatura compresa tra -150 e -196 °C circa. La conservazione a -80 °C è accettabile solo come breve fase intermedia prima del trasferimento in azoto liquido.

Controllo di qualità / Profilo genetico / HLA