

661w cellen | 305889**Algemene informatie****Description**

661W is een van muizen afkomstige fotoreceptorcelijn die oorspronkelijk is ontwikkeld uit een retinale tumor die ontstond in een transgene muis die het grote T-antigeen van het simian virus 40 (SV40) tot expressie bracht onder controle van de promotor van het humane interfotoreceptor retinoïde-bindende eiwit (IRBP). De lijn is gegenereerd uit postnatale retinale explantaten en vertegenwoordigt geïmmortaliseerde kegelfotoreceptorvoorlopers. 661W-cellen vertonen adherente groei en worden routinematig onderhouden in Dulbecco's gemodificeerd Eagle-medium, aangevuld met foetaal runderserum onder standaard kweekomstandigheden. Ze worden veel gebruikt als in-vitromodel van kegelfotoreceptoren, met name in studies naar door licht veroorzaakte schade, oxidatieve stress, apoptose en retinale degeneratieve mechanismen.

Moleculaire en transcriptomische karakterisering bevestigt dat 661W-cellen de meeste kegelfotoreceptor-markers tot expressie brengen, waaronder kegelopines en fototransductie-geassocieerde genen. Hoge-resolutie beeldvormingsstudies tonen aan dat deze cellen primaire cilia vormen met structurele kenmerken die doen denken aan fotoreceptorverbindende cilia en buitenste segmenten. Immunocytochemische en ultrastructurele analyses tonen de lokalisatie van ciliaire eiwitten in het axonema, het membraan en de overgangszone aan, wat hun bruikbaarheid bij het onderzoeken van retinale ciliopathieën ondersteunt. Functionele studies hebben aangetoond dat siRNA-gemedieerde knockdown van intraflagellaire transportgenen zoals Ift88 leidt tot verlies van cilia, wat 661W valideert als een hanteerbaar systeem voor mechanistische studies van ciliaire biologie.

661W-cellen zijn zeer gevoelig voor foto-oxidatieve stress. Blootstelling aan zichtbaar licht induceert apoptotische celdood die gepaard gaat met een verlaging van de NF- κ B-activiteit en activering van caspase-routes. Overexpressie van anti-apoptotische eiwitten zoals Bcl-2 verleent resistentie tegen door licht geïnduceerde apoptose, waardoor de nucleaire activiteit van NF- κ B behouden blijft en de celoverleving verbetert. Deze eigenschappen maken 661W tot een robuust model voor het ontrafelen van moleculaire routes die ten grondslag liggen aan fotoreceptordegeneratie. Het is belangrijk op te merken dat de 661W-lijn ook betrokken is geweest bij historische gevallen van verkeerde identificatie van cellijnen, waaronder kruisbesmetting met de RGC-5-lijn, wat de noodzaak van rigoureuze authenticatie bij het gebruik van dit model onderstreept. Al met al biedt 661W een goed gekarakteriseerd muizenplatform voor kegelvormige fotoreceptoren voor het bestuderen van retinale degeneratie, reacties op oxidatieve stress, ciliaire functie en therapeutische interventies gericht op het overleven van kegels.

Organism

Muis

Tissue

Oog, netvlies

Metastatic site

Locatie van de primaire tumor (netvlies)

Applications

Biologie van de kegelvormige fotoreceptoren; door licht veroorzaakte degeneratie van het netvlies; apoptose door oxidatieve stress; biologie van de trilharen van fotoreceptoren; modellering van degeneratieve aandoeningen van het netvlies; onderzoek naar de NF- κ B- en caspase-routes; evaluatie van oogheelkundige geneesmiddelen

Synonyms

661w, 661 W

661w cellen | 305889

Kenmerken

Age	Leeftijd onbepaald
Gender	Mannelijk
Morphology	Cone-fotoreceptor-achtig
Cell type	Netvlieskegeltjes
Growth properties	Aanhangend

Regelgevende gegevens

Citation	661W (Cytion catalogusnummer 305889)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	10090
CellosaurusAccession	CVCL_6240
GMO Status	GMO-S1: De 661W-lijn is afgeleid van een transgene muis die het grote T-antigeen van SV40 tot expressie brengt onder de IRBP-promotor; dit transgen zorgt voor fotoreceptorspecifieke onsterfelijkheid. Deze classificatie geldt alleen binnen Duitsland en kan elders afwijken.

Biomoleculaire gegevens

Omgaan met

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/L Glucose, w: 4 mM L-Glutamine, w: 3,7 g/L NaHCO ₃ , w: 1,0 mM Natriumpyruvaat (Cytion artikelnummer 820300a)
Supplements	Vul het medium aan met 10% FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	~24 uur

661w cellen | 305889

Split ratio	1 tot en met 5
--------------------	----------------

Seeding density	1 tot 3×10^4 cellen/cm ²
------------------------	--

Fluid renewal	Om de 2 tot 3 dagen
----------------------	---------------------

Freeze medium	Als cryoconserveringsmedium gebruiken we volledig groeimedium + 10% DMSO voor voldoende levensvatbaarheid na het ontdooien.
----------------------	---

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Controleer of de flacon bij levering diepgevroren blijft, aangezien de cellen op droog ijs worden verzonden om optimale temperaturen tijdens het transport te behouden.
2. Bewaar het cryoflesje na ontvangst onmiddellijk bij temperaturen lager dan -150 °C om de integriteit van de cellen te behouden, of ga verder met stap 3 als onmiddellijke kweek vereist is.
3. Voor onmiddellijke kweek: ontdooi de flacon snel door deze onder te dompelen in een waterbad van 37 °C met schoon water en een antimicrobieel middel, waarbij u 40-60 seconden zachtjes schudt totdat er een klein ijsklontje overblijft.
4. Voer alle volgende stappen uit onder steriele omstandigheden in een stromingskap en desinfecteer de cryoflacon met 70% ethanol voordat deze wordt geopend.
5. Open de gedesinfecteerde flacon voorzichtig en breng de celsuspensie over in een centrifugebuis van 15 ml met 8 ml kweekmedium op kamertemperatuur en meng voorzichtig.
6. Centrifugeer het mengsel gedurende 5 minuten bij 200 x g en gooi het supernatant met vriesmedium voorzichtig weg.
7. Volg de procedure beschreven onder Herstel na ontdooien

Incubation Atmosphere	37°C, 5% CO ₂ , bevochtigde atmosfeer.
------------------------------	---

Flask Coating	Geen
----------------------	------

**Shipping
Conditions**

Gecryopreserveerde cellijnen worden verzonden op droog ijs in gevalideerde, geïsoleerde verpakkingen met voldoende koelmiddel om gedurende het transport ongeveer -78 °C te handhaven. Inspecteer de verpakking onmiddellijk na ontvangst en breng de flacons onverwijld over naar de juiste opslagplaats.

661w cellen | 305889

**Storage
Conditions**

Voor langdurige bewaring plaatst u flesjes in vloeibare stikstof in dampfase bij ongeveer -150 tot -196 °C. Opslag bij -80 °C is alleen aanvaardbaar als korte tussenstap vóór overbrenging naar vloeibare stikstof.

Kwaliteitscontrole en moleculaire analyse