

**661w Celler | 305889****Generell informasjon****Description**

661W er en murin fotoreseptor-avledet cellelinje som opprinnelig ble etablert fra en netthinne-svulst som oppstod i en transgen mus som uttrykker simian virus 40 (SV40) stort T-antigen under kontroll av det humane interfotoreseptor-retinoidbindende proteinet (IRBP) promotoren. Linjen ble generert fra postnatale netthinneeksplantater og representerer immortalisert fotoreseptorforløpere. 661W-celler viser vedheftende vekst og oppbevares rutinemessig i Dulbeccos modifiserte Eagle-medium tilsatt føtal bovint serum under standard kulturforhold. De har blitt mye brukt som en in vitro-modell av fotoreseptorer, spesielt i studier av lysindusert skade, oksidativt stress, apoptose og degenerative mekanismer i netthinnen.

Molekylær og transkriptomisk karakterisering bekrefter at 661W-celler uttrykker de fleste markører for fotoreseptorer i tappe, inkludert tappeopsiner og fototransduksjonsassosierte gener. Høyoppløselige billediagnostiske studier viser at disse cellene danner primære cilier med strukturelle trekk som minner om fotoreseptorers forbindelsescilier og ytre segmenter. Immunocytokjemiske og ultrastrukturelle analyser avslører lokalisering av ciliære proteiner til aksonemet, membranen og overgangssonen, noe som støtter deres nytte i undersøkelser av ciliopatii i netthinnen. Funksjonelle studier har vist at siRNA-mediert nedregulering av intraflagellære transportgener som *Ift88* fører til tap av cilier, noe som validerer 661W som et håndterbart system for mekanistiske studier av ciliærbiologi.

661W-celler er svært følsomme for fotooksidativt stress. Eksponering for synlig lys induserer apoptotisk celledød assosiert med nedregulering av NF- $\kappa$ B-aktivitet og aktivering av caspase-veier. Overekspressjon av anti-apoptotiske proteiner som Bcl-2 gir resistens mot lysindusert apoptose, opprettholder NF- $\kappa$ B-kjerneaktivitet og forbedrer celleoverlevelse. Disse egenskapene gjør 661W til en robust modell for å dissekere molekulære veier som ligger til grunn for fotoreseptordegenerasjon. Det er viktig å merke seg at 661W-linjen også har vært involvert i historiske tilfeller av feilidentifisering av cellelinjer, inkludert krysskontaminering med RGC-5-linjen, noe som understreker nødvendigheten av streng autentisering når denne modellen brukes. Samlet sett gir 661W en godt karakterisert murin fotoreseptorplattform for studier av retinal degenerasjon, oksidativ stressrespons, ciliær funksjon og terapeutiske intervensjoner rettet mot overlevelse av fotoreseptorer.

**Organism** Mus**Tissue** Øye, netthinne**Metastatic site** Primærsvulstens lokalisering (netthinnen)**Applications** Biologi ved kjeglefotoreseptorer; lysindusert netthinne degenerasjon; apoptose forårsaket av oksidativt stress; biologi ved fotoreseptorers cilier; modellering av degenerative netthinnesykdommer; studier av NF- $\kappa$ B- og caspase-signalveier; evaluering av oftalmologiske legemidler**Synonyms** 661w, 661 W**Kjennetegn****Age** Uspesifisert alder

**661w Celler | 305889****Gender** Mann**Morphology** Ligner på kjegleformede fotoreseptorer**Cell type** Tappcellene i netthinnen**Growth properties** Vedhengende**Regulatoriske data****Citation** 661W (Cytion-katalognummer 305889)**Biosafety level** 1**NCBI\_TaxID** 10090**CellosaurusAccession** CVCL\_6240**GMO Status** GMO-S1: 661W-linjen stammer fra en transgen mus som uttrykker SV40-stort T-antigen under IRBP-promotoren; dette transgenet fører til fotoreseptorspesifikk immortalisering. Denne klassifiseringen gjelder kun i Tyskland og kan være annerledes andre steder.**Biomolekylære data****Håndtering****Culture Medium** DMEM, m: 4,5 g/L glukose, m: 4 mM L-glutamin, m: 3,7 g/L NaHCO<sub>3</sub>, m: 1,0 mM natriumpyruvat (Cytion artikkelnummer 820300a)**Supplements** Suppler mediet med 10 % FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Doubling time** ~24 timer**Split ratio** 1 til 5**Seeding density** 1 til  $3 \times 10^4$  celler/cm<sup>2</sup>

## 661w Celler | 305889

**Fluid renewal** Hver 2. til 3. dag

**Freeze medium** Som kryopreserveringsmedium bruker vi komplett vekstmedium + 10 % DMSO for å sikre tilstrekkelig levedyktighet etter optiming.

### Thawing and Culturing Cells

1. Kontroller at hetteglasset er dypfrost ved levering, ettersom cellene sendes på tørris for å opprettholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved mottak skal hetteglasset enten oppbevares umiddelbart ved temperaturer under  $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$  for å sikre at cellenes integritet bevares, eller gå videre til trinn 3 hvis umiddelbar dyrking er nødvendig.
3. Ved umiddelbar dyrking tiner du hetteglasset raskt ved å senke det ned i et  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$  varmt vannbad med rent vann og et antimikrobielt middel, og røre forsiktig i 40-60 sekunder til det blir en liten isklump igjen.
4. Utfør alle påfølgende trinn under sterile forhold i en strømningshette, og desinfiser kryoflasken med 70 % etanol før du åpner den.
5. Åpne det desinfiserte hetteglasset forsiktig, og overfør cellesuspensjonen til et 15 ml sentrifugerør som inneholder 8 ml romtemperert dyrkingsmedium, og bland forsiktig.
6. Sentrifuger blandingen ved  $200 \times g$  i 5 minutter, og kast supernatanten som inneholder frysemedium, forsiktig.
7. Følg prosedyren som er beskrevet under Post-Thaw Recovery

**Incubation Atmosphere**  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ , 5 %  $\text{CO}_2$ , befuktet atmosfære.

**Flask Coating** Ingen

### Shipping Conditions

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca.  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$  under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

### Storage Conditions

For langtidsoppbevaring plasseres hetteglassene i flytende nitrogen i dampfase ved ca.  $-150$  til  $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Lagring ved  $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$  er kun akseptabelt som et kort mellomtrinn før overføring til flytende nitrogen.

## Kvalitetskontroll / Genetisk profil / HLA