

Клетки L-WRN | 300641

Обща информация

Description

Клетъчната линия L-WRN е миша фибробластна клетъчна линия, получена от клетките L, които са миши фибробласти, първоначално изолирани от съединителна тъкан. Клетките L-WRN са разработени така, че да експресират стабилно Wnt3a, R-spondin 3 и Noggin. Тези фактори са от решаващо значение за растежа и поддържането на чревни органоиди и култури от стволови клетки. Свърхекспресията на тези протеини засилва пролиферацията и диференциацията на чревните стволови клетки, което превръща L-WRN клетките в ценен инструмент за изучаване на чревната биология и моделиране на заболявания.

В допълнение към приложението им в органоидната култура, L-WRN клетките служат като надежден модел за изследване на сигналните пътища на Wnt. Wnt сигнализацията е от ключово значение за регулирането на съдбата на клетките, пролиферацията и миграцията по време на развитието и в тъканите на възрастните. Като осигуряват постоянен и контролиран източник на Wnt3a, R-spondin 3 и Noggin, L-WRN клетките улесняват изследванията на молекулярните механизми, лежащи в основата на тези процеси. Изследователите могат да използват тези клетки, за да изследват ролята на тези сигнални молекули в различни биологични контексти, включително рак, регенерация на тъкани и биология на развитието.

Като цяло клетъчната линия L-WRN е мощен инструмент в биомедицинските изследвания поради способността ѝ да поддържа растежа на сложни триизмерни култури и полезността ѝ за изучаване на ключови сигнални пътища. Ролята ѝ в напредъка на изследванията на чревните стволови клетки и приносът ѝ към разбирането ни за Wnt сигнализацията подчертават значението ѝ в областта на клетъчната и молекулярната биология.

Organism

Мишка

Tissue

Съединителна тъкан

Applications

3D клетъчна култура

Характеристики

Breed/Subspecies

СЗН/Ап

Age

100 дни

Gender

Мъжки

Morphology

Фибробласти

Growth properties

Придържащи се

Регулаторни данни

Клетки L-WRN | 300641

Citation	L-WRN (каталожен номер 300641 на Cytion)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_DA06
GMO Status	GMO-S1: Тази клетъчна линия, получена от миши NIH-3T3 (L-WRN), съдържа експресионни конструкции за Wnt3a, R-spondin-3 и Noggin, включително SV40 ДНК последователности и двойни антибиотични маркери (hph и Tn5-neo), което позволява секрецията на тези сигнални молекули. Възквенията са стабилно присъстващи в клетките на базата на NIH-3T3. Тази класификация важи само в Германия и може да се различава в други страни.

Биомолекулярни данни

Protein expression	Wnt-3A, R-спондин, noggin
---------------------------	---------------------------

Работа с

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/L глюкоза, w: 4 mM L-глутамин, w: 3,7 g/L NaHCO ₃ , w: 1,0 mM натриев пируват (номер на изделието на Cytion 820300a)
Supplements	Допълнете средата с 10% FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Отстранете старата среда от адхезивните клетки и ги промийте с PBS, която не съдържа калций и магнезий. За колби T25 използвайте 3-5 ml PBS, а за колби T75 - 5-10 ml. След това покрийте клетките изцяло с Accutase, като използвате 1-2 ml за колби T25 и 2,5 ml за колби T75. Оставете клетките да се инкубират на стайна температура за 8-10 минути, за да се отделят. След инкубацията внимателно разбъркайте клетките с 10 ml среда, за да ги ресуспендирайте, след което центрофугирайте при 300xg за 3 минути. Изхвърлете супернатантата, ресуспендирайте клетките в прясна среда и ги прехвърлете в нови колби, които вече съдържат прясна среда.
Freeze medium	Като среда за криоконсервация използваме пълна среда за растеж (включително FBS) + 10% DMSO за адекватна жизнеспособност след размразяване или CM-1 (каталожен номер 800100 на Cytion), която включва оптимизирани осмопротектори и метаболитни стабилизатори за подобряване на възстановяването и намаляване на криоиндуцирания стрес.

Клетки L-WRN | 300641

Thawing and Culturing Cells

1. Уверете се, че флаконът остава дълбоко замразен при доставката, тъй като клетките се транспортират със сух лед, за да се поддържат оптимални температури по време на транспортирането.
2. При получаване или съхранявайте незабавно криовиолата при температури под $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, за да осигурите запазване на клетъчната цялост, или преминете към стъпка 3, ако е необходимо незабавно култивиране.
3. За незабавно култивиране бързо размразете флакона, като го потопите във водна баня с чиста вода и антимикуробен агент с температура $37\text{ }^{\circ}\text{C}$, като разбърквате внимателно в продължение на 40-60 секунди, докато остане малка ледена бучка.
4. Извършвайте всички следващи стъпки при стерилни условия в аспиратор, като преди отваряне дезинфекцирате криовиолата със 70% етанол.
5. Внимателно отворете дезинфекцирания флакон и прехвърлете клетъчната суспензия в 15 ml центрофужна епруветка, съдържаща 8 ml хранителна среда със стайна температура, като разбърквате внимателно.
6. Центрофугирайте сместа при 300 x g в продължение на 3 минути, за да отделите клетките, и внимателно изхвърлете супернатантата, съдържаща остатъчна замразяваща среда.
7. Внимателно ресуспендирайте клетъчната пелета в 10 ml прясна хранителна среда. За адхезивни клетки разделете суспензията между две колби T25; за суспензионни култури прехвърлете цялата среда в една колба T25, за да стимулирате ефективното взаимодействие и растеж на клетките.
8. Придържайте се към установените протоколи за субкултивиране за непрекъснат растеж и поддържане на клетъчната линия, като гарантирате надеждни експериментални резултати.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , овлажнена атмосфера.

Flask Coating

За оптимално прикрепване и жизнеспособност след размразяване препоръчваме да се използват **колби или плаки с колагеново покритие**.

Freezing Procedure

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

Клетки L-WRN | 300641

Shipping Conditions

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително -78°C по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

Storage Conditions

За дълготрайно съхранение поставете флаконите в течен азот в парна фаза при температура около -150 до -196°C . Съхранението при -80°C е приемливо само като кратък междинен етап преди прехвърлянето в течен азот.

Контрол на качеството / Генетичен профил / HLA

Sterility

Замърсяването с микоплазма се изключва както чрез PCR-базирани анализи, така и чрез луминесцентни методи за откриване на микоплазма.

За да се гарантира, че няма бактериално, гъбично или дрождево замърсяване, клетъчните култури се подлагат на ежедневни визуални проверки.