

Buňky L-WRN | 300641**Obecné informace****Description**

Buněčná linie L-WRN je myší fibroblastová buněčná linie odvozená z buněk L, což jsou myší fibroblasty původně izolované z pojivové tkáně. Buňky L-WRN byly upraveny tak, aby stabilně exprimovaly Wnt3a, R-spondin 3 a Noggin. Tyto faktory jsou rozhodující pro růst a udržování střevních organoidů a kultur kmenových buněk. Nadměrná exprese těchto proteinů zvyšuje proliferaci a diferenciaci střevních kmenových buněk, což z buněk L-WRN činí cenný nástroj pro studium střevní biologie a modelování nemocí.

Kromě použití v organoidních kulturách slouží buňky L-WRN jako robustní model pro zkoumání signálních drah Wnt. Signalizace Wnt je klíčová pro regulaci osudu, proliferace a migrace buněk během vývoje a v dospělých tkáních. Tím, že buňky L-WRN poskytují konzistentní a kontrolovaný zdroj Wnt3a, R-spondinu 3 a Nogginu, usnadňují výzkum molekulárních mechanismů, které jsou základem těchto procesů. Výzkumníci mohou tyto buňky využít k rozboru rolí těchto signálních molekul v různých biologických kontextech, včetně rakoviny, regenerace tkání a vývojové biologie.

Celkově je buněčná linie L-WRN mocným nástrojem v biomedicinském výzkumu díky své schopnosti podporovat růst komplexních trojrozměrných kultur a díky své užitečnosti při studiu klíčových signálních drah. Její úloha v rozvoji výzkumu střevních kmenových buněk a její přínos k pochopení signalizace Wnt podtrhují její význam v oblasti buněčné a molekulární biologie.

Organism	Myš
Tissue	Pojivová tkáň
Applications	3D buněčná kultura

Charakteristika

Breed/Subspecies	C3H/An
Age	100 dní
Gender	Muži
Morphology	Fibroblasty
Growth properties	Adherentní

Regulační údaje

Citation	L-WRN (katalogové číslo Cytion 300641)
-----------------	----------------------------------------

Buňky L-WRN | 300641

Biosafety level 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_DA06**GMO Status** GMO-S1: Tato myší buněčná linie odvozená z NIH-3T3 (L-WRN) obsahuje expresní konstrukty pro Wnt3a, R-spondin-3 a Noggin, včetně sekvencí DNA SV40 a duálních antibiotických markerů (hph a Tn5-neo), které umožňují sekreci těchto signálních molekul. Vložky jsou stabilně přítomny v buňkách na bázi NIH-3T3. Tato klasifikace platí pouze v Německu a jinde se může lišit.**Biomolekulární data****Protein expression** Wnt-3A, R-spondin, noggin**Zpracování****Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/l glukózy, w: 4 mM L-glutaminu, w: 3,7 g/l NaHCO₃, w: 1,0 mM pyruvátu sodného (číslo výrobku Cytion 820300a)**Supplements** Doplněte médium o 10% FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Odstraňte staré médium z adherovaných buněk a promyjte je PBS bez vápníku a hořčičku. Pro baňky T25 použijte 3-5 ml PBS a pro baňky T75 5-10 ml. Poté buňky zcela zakryjte přípravkem Accutase, přičemž použijte 1-2 ml pro baňky T25 a 2,5 ml pro baňky T75. Nechte buňky inkubovat při pokojové teplotě po dobu 8-10 minut, aby se oddělily. Po inkubaci jemně promíchejte buňky s 10 ml média, aby byly znovu suspendovány, a poté je odstředte při 300xg po dobu 3 minut. Supernatant vyhodte, buňky znovu rozpustte v čerstvém médiu a přeneste je do nových baněk, které již obsahují čerstvé médium.**Freeze medium** Jako kryokonzervační médium používáme kompletní růstové médium (včetně FBS) + 10 % DMSO pro zajištění dostatečné životaschopnosti po rozmrazení nebo CM-1 (katalogové číslo 800100 společnosti Cytion), které obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory pro zlepšení regenerace a snížení stresu způsobeného kryo.

Buňky L-WRN | 300641

Thawing and Culturing Cells

1. Ověřte si, že lahvička zůstane při dodání hluboce zmrazená, protože buňky se přepravují na suchém ledu, aby se během přepravy udržely optimální teploty.
2. Po obdržení kryovialku buď okamžitě uložte při teplotě nižší než -150 °C, abyste zajistili zachování buněčné integrity, nebo přejděte ke kroku 3, pokud je nutná okamžitá kultivace.
3. Pro okamžitou kultivaci rychle rozmrazte lahvičku ponořením do vodní lázně o teplotě 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálním prostředkem a jemně ji míchejte po dobu 40-60 sekund, dokud nezůstane malý ledový chuchvalec.
4. Všechny další kroky provádějte za sterilních podmínek v průtokové digestoři a před otevřením kryovialku dezinfikujte 70% ethanolem.
5. Opatrně otevřete dezinfikovanou lahvičku a přeneste buněčnou suspenzi do 15 ml centrifugační zkumavky obsahující 8 ml kultivačního média o pokojové teplotě a jemně promíchejte.
6. Směs odstřeďte při 300 x g po dobu 3 minut, aby se buňky oddělily, a supernatant obsahující zbytky mrazicího média opatrně zlikvidujte.
7. Pelety buněk jemně resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačního média. U adherentních buněk rozdělte suspenzi mezi dvě kultivační baňky T25; u suspenzních kultur přeneste veškeré médium do jedné baňky T25, abyste podpořili účinnou interakci a růst buněk.
8. Dodržujte zavedené subkultivační protokoly pro kontinuální růst a udržování buněčné linie, čímž zajistíte spolehlivé výsledky experimentů.

Incubation Atmosphere

37 °C, 5 % CO_2 , zvlhčená atmosféra.

Flask Coating

Žádný

Freezing Procedure

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

Shipping Conditions

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

Buňky L-WRN | 300641

**Storage
Conditions**

Pro dlouhodobé uchování umístěte lahvičky do kapalného dusíku v plynné fázi při teplotě přibližně -150 až -196 °C. Skladování při -80 °C je přijatelné pouze jako krátký přechodný krok před přemístěním do kapalného dusíku.

Kontrola kvality / Genetický profil / HLA

Sterility

Kontaminace mykoplazmaty je vyloučena jak pomocí testů založených na PCR, tak pomocí luminiscenčních metod detekce mykoplazmy.

Aby se zajistilo, že nedojde ke kontaminaci bakteriemi, plísněmi nebo kvasinkami, jsou buněčné kultury denně podrobovány vizuálním kontrolám.