

L-WRN-celler | 300641**Generel information****Description**

L-WRN-cellelinjen er en murin fibroblastcellelinje, der stammer fra L-cellerne, som er musefibroblaster, der oprindeligt blev isoleret fra bindevæv. L-WRN-celler er blevet konstrueret til stabilt at udtrykke Wnt3a, R-spondin 3 og Noggin. Disse faktorer er afgørende for vækst og vedligeholdelse af tarmorganoider og stamcellekulturer. Overekspressionen af disse proteiner øger spredningen og differentieringen af tarmstamceller, hvilket gør L-WRN-celler til et værdifuldt værktøj til at studere tarmbiologi og sygdomsmodellering.

Ud over deres anvendelse i organoidkulturer fungerer L-WRN-celler som en robust model til undersøgelse af Wnt-signalveje. Wnt-signalering er afgørende for regulering af celleskæbne, spredning og migration under udvikling og i voksent væv. Ved at tilvejebringe en konsekvent og kontrolleret kilde til Wnt3a, R-spondin 3 og Noggin letter L-WRN-celler forskningen i de molekylære mekanismer, der ligger til grund for disse processer. Forskere kan bruge disse celler til at dissekere disse signalmolekylers roller i forskellige biologiske sammenhænge, herunder kræft, vævsregenerering og udviklingsbiologi.

Samlet set er L-WRN-cellelinjen et stærkt værktøj i biomedicinsk forskning på grund af dens evne til at understøtte væksten af komplekse tredimensionelle kulturer og dens anvendelighed til at studere vigtige signalveje. Dens rolle i udviklingen af tarmstamcelleforskningen og dens bidrag til vores forståelse af Wnt-signalering fremhæver dens betydning inden for celle- og molekylærbiologi.

Organism

Mus

Tissue

Bindevæv

Applications

3D-cellekultur

Karakteristika**Breed/Subspecies**

C3H/An

Age

100 dage

Gender

Mand

Morphology

Fibroblast

Growth properties

Vedhæftende

Regulatoriske data**Citation**

L-WRN (Cytion katalognummer 300641)

L-WRN-celler | 300641**Biosafety level**

1

NCBI_TaxID

10090

CellosaurusAccession

CVCL_DA06

GMO Status

GMO-S1: Denne murine NIH-3T3-afledte cellelinje (L-WRN) indeholder ekspressionskonstruktioner for Wnt3a, R-spondin-3 og Noggin, herunder SV40-DNA-sekvenser og dobbelte antibiotikamarkører (hph og Tn5-neo), hvilket muliggør sekretion af disse signalmolekyler. Inserti er stabilt til stede i NIH-3T3-baserede celler. Denne klassificering gælder kun i Tyskland og kan være anderledes andre steder.

Biomolekylære data**Protein
expression**

Wnt-3A, R-spondin, noggin

Håndtering**Culture
Medium**

DMEM, w: 4,5 g/L glukose, w: 4 mM L-glutamin, w: 3,7 g/L NaHCO₃, w: 1,0 mM natriumpyruvat (Cytion artikelnummer 820300a)

Supplements

Suppler mediet med 10% FBS

**Dissociation
Reagent**

Accutase

Subculturing

Fjern det gamle medium fra de klæbende celler, og vask dem med PBS, der ikke indeholder calcium og magnesium. Brug 3-5 ml PBS til T25-kolber og 5-10 ml til T75-kolber. Dæk derefter cellerne helt med Accutase, brug 1-2 ml til T25-kolber og 2,5 ml til T75-kolber. Lad cellerne inkubere ved stuetemperatur i 8-10 minutter for at løsne dem. Efter inkubationen blandes cellerne forsigtigt med 10 ml medium for at resuspendere dem, og centrifugeres derefter ved 300xg i 3 minutter. Kassér supernatanten, resuspender cellerne i frisk medium, og overfør dem til nye kolber, der allerede indeholder frisk medium.

**Freeze
medium**

Som kryopræservationsmedium bruger vi komplet vækstmedium (inklusive FBS) + 10 % DMSO for tilstrækkelig levedygtighed efter optøning eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som indeholder optimerede osmobeskyttende stoffer og metaboliske stabilisatorer for at forbedre genopretningen og reducere kryoinduceret stress.

L-WRN-celler | 300641

Thawing and Culturing Cells

1. Bekræft, at hætteglasset forbliver dybfrosset ved levering, da cellerne sendes på tør is for at opretholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved modtagelsen skal du enten straks opbevare kryohætteglasset ved temperaturer under -150 °C for at sikre, at cellernes integritet bevares, eller gå videre til trin 3, hvis øjeblikkelig dyrkning er påkrævet.
3. Ved øjeblikkelig dyrkning optøs hætteglasset hurtigt ved at nedsænke det i et 37 °C varmt vandbad med rent vand og et antimikrobielt middel og røre forsigtigt i 40-60 sekunder, indtil der kun er en lille isklump tilbage.
4. Udfør alle efterfølgende trin under sterile forhold i en flowhætte, og desinficer kryovialet med 70 % ethanol, før det åbnes.
5. Åbn forsigtigt det desinficerede hætteglas, og overfør cellesuspensionen til et 15 ml centrifugerør, der indeholder 8 ml kulturmedium ved stuetemperatur, og bland forsigtigt.
6. Centrifuger blandingen ved 300 x g i 3 minutter for at adskille cellerne, og kassér omhyggeligt supernatanten, der indeholder resterende frysemedium.
7. Resuspender forsigtigt cellepelleten i 10 ml frisk dyrkningsmedium. For klæbende celler deles suspensionen mellem to T25-kulturkolber; for suspensionskulturer overføres alt mediet til en T25-kolbe for at fremme effektiv celleinteraktion og -vækst.
8. Overhold etablerede subkulturprotokoller for fortsat vækst og vedligeholdelse af cellelinjen, hvilket sikrer pålidelige eksperimentelle resultater.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO_2 , befugt atmosfære.

Flask Coating

Ingen

Freezing Procedure

Kryopræservede cellelinjer sendes på tør is i valideret, isoleret emballage med tilstrækkeligt kølemiddel til at opretholde ca. -78 °C under hele transporten. Ved modtagelse skal beholderen straks inspiceres, og hætteglassene skal straks overføres til passende opbevaring.

Shipping Conditions

Kryopræservede cellelinjer sendes på tør is i valideret, isoleret emballage med tilstrækkeligt kølemiddel til at opretholde ca. -78 °C under hele transporten. Ved modtagelse skal beholderen straks inspiceres, og hætteglassene skal straks overføres til passende opbevaring.

L-WRN-celler | 300641

Storage Conditions

For langtidsopbevaring anbringes hætteglas i flydende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Opbevaring ved -80 °C er kun acceptabelt som et kort mellemtrin før overførsel til flydende nitrogen.

Kvalitetskontrol og molekylær analyse

Sterility

Mycoplasma-kontaminering udelukkes ved hjælp af både PCR-baserede assays og luminescensbaserede mycoplasma-detektionsmetoder.

For at sikre, at der ikke er nogen bakterie-, svampe- eller gærforurening, underkastes cellekulturerne daglige visuelle inspektioner.