

**L-WRN-Zellen | 300641**

**Allgemeine Informationen**

**Description**

Die L-WRN-Zelllinie ist eine murine Fibroblasten-Zelllinie, die von den L-Zellen abgeleitet ist, bei denen es sich um Mausfibroblasten handelt, die ursprünglich aus Bindegewebe isoliert wurden. Die L-WRN-Zellen wurden so manipuliert, dass sie Wnt3a, R-Spondin 3 und Noggin stabil exprimieren. Diese Faktoren sind entscheidend für das Wachstum und die Aufrechterhaltung von Darmorganoiden und Stammzellkulturen. Die Überexpression dieser Proteine fördert die Vermehrung und Differenzierung von Darmstammzellen und macht L-WRN-Zellen zu einem wertvollen Instrument für die Untersuchung der Darmbiologie und die Modellierung von Krankheiten.

Zusätzlich zu ihrer Anwendung in der Organoidkultur dienen L-WRN-Zellen als robustes Modell zur Untersuchung von Wnt-Signalwegen. Die Wnt-Signalübertragung spielt eine zentrale Rolle bei der Regulierung des Zellschicksals, der Zellproliferation und der Zellmigration während der Entwicklung und in erwachsenen Geweben. Durch die Bereitstellung einer konsistenten und kontrollierten Quelle von Wnt3a, R-Spondin 3 und Noggin erleichtern L-WRN-Zellen die Erforschung der diesen Prozessen zugrunde liegenden molekularen Mechanismen. Forscher können diese Zellen nutzen, um die Rolle dieser Signalmoleküle in verschiedenen biologischen Zusammenhängen zu untersuchen, darunter Krebs, Geweberegeneration und Entwicklungsbiologie.

Insgesamt ist die L-WRN-Zelllinie ein leistungsfähiges Instrument für die biomedizinische Forschung, da sie das Wachstum komplexer dreidimensionaler Kulturen unterstützt und sich für die Untersuchung wichtiger Signalwege eignet. Ihre Rolle bei der Weiterentwicklung der Darmstammzellforschung und ihre Beiträge zum Verständnis der Wnt-Signalübertragung unterstreichen ihre Bedeutung auf dem Gebiet der Zell- und Molekularbiologie.

**Organism**

Maus

**Tissue**

Bindegewebe

**Applications**

3D-Zellkultur

**Merkmale**

**Breed/Subspecies**

C3H/An

**Age**

100 Tage

**Gender**

Männlich

**Morphology**

Fibroblasten

**Growth properties**

Adhärent

**Regulatorische Daten**

## L-WRN-Zellen | 300641

<b>Citation</b>	L-WRN (Cytion-Katalognummer 300641)
<b>Biosafety level</b>	1
<b>NCBI_TaxID</b>	9606
<b>CellosaurusAccession</b>	CVCL_DA06
<b>GMO Status</b>	GMO-S1: Diese aus NIH-3T3-Zellen der Maus gewonnene Zelllinie (L-WRN) enthält Expressionskonstrukte für Wnt3a, R-Spondin-3 und Noggin, einschließlich SV40-DNA-Sequenzen und doppelten Antibiotika-Markern (hph und Tn5-neo), die die Sekretion dieser Signalmoleküle ermöglichen. Die Inserts sind in NIH-3T3-basierten Zellen stabil vorhanden. Diese Einstufung gilt nur innerhalb Deutschlands und kann in anderen Ländern abweichen.

## Biomolekulare Daten

<b>Protein expression</b>	Wnt-3A, R-Spondin, Noggin
---------------------------	---------------------------

## Handhabung

<b>Culture Medium</b>	DMEM, w: 4,5 g/L Glucose, w: 4 mM L-Glutamin, w: 3,7 g/L NaHCO <sub>3</sub> , w: 1,0 mM Natriumpyruvat (Cytion-Artikelnummer 820300a)
<b>Supplements</b>	Ergänzen Sie das Medium mit 10% FBS
<b>Dissociation Reagent</b>	Accutase
<b>Subculturing</b>	Entfernen Sie das alte Medium von den adhären Zellen und waschen Sie sie mit PBS, das kein Kalzium und Magnesium enthält. Für T25-Kolben 3-5 ml PBS und für T75-Kolben 5-10 ml verwenden. Anschließend werden die Zellen vollständig mit Accutase bedeckt, wobei 1-2 ml für T25-Kolben und 2,5 ml für T75-Kolben verwendet werden. Lassen Sie die Zellen 8-10 Minuten bei Raumtemperatur inkubieren, um sie abzulösen. Nach der Inkubation mischen Sie die Zellen vorsichtig mit 10 ml Medium, um sie zu resuspendieren, und zentrifugieren sie dann 3 Minuten lang bei 300xg. Den Überstand verwerfen, die Zellen in frischem Medium resuspendieren und in neue Kolben überführen, die bereits frisches Medium enthalten.
<b>Freeze medium</b>	Als Kryokonservierungsmedium verwenden wir komplettes Wachstumsmedium (einschließlich FBS) + 10 % DMSO für eine angemessene Lebensfähigkeit nach dem Auftauen oder CM-1 (Cytion Katalognummer 800100), das optimierte Osmoprotektoren und Stoffwechselstabilisatoren enthält, um die Erholung zu verbessern und kryoinduzierten Stress zu reduzieren.

**L-WRN-Zellen | 300641**

**Thawing and  
Culturing Cells**

1. Vergewissern Sie sich, dass das Fläschchen bei der Lieferung tiefgefroren ist, da die Zellen auf Trockeneis versandt werden, um während des Transports optimale Temperaturen zu erhalten.
2. Lagern Sie das Kryofläschchen nach Erhalt entweder sofort bei Temperaturen unter -150 °C, um die Unversehrtheit der Zellen zu gewährleisten, oder fahren Sie mit Schritt 3 fort, wenn eine sofortige Kultivierung erforderlich ist.
3. Für eine sofortige Kultivierung tauen Sie das Fläschchen schnell auf, indem Sie es in ein 37°C warmes Wasserbad mit sauberem Wasser und einem antimikrobiellen Mittel eintauchen und 40-60 Sekunden lang vorsichtig schütteln, bis ein kleiner Eisklumpen zurückbleibt.
4. Führen Sie alle weiteren Schritte unter sterilen Bedingungen in einer Abzugshaube durch und desinfizieren Sie das Kryo-Fläschchen vor dem Öffnen mit 70%igem Ethanol.
5. Das desinfizierte Fläschchen vorsichtig öffnen und die Zellsuspension unter vorsichtigem Mischen in ein 15-ml-Zentrifugenröhrchen mit 8 ml Kulturmedium bei Raumtemperatur überführen.
6. Zentrifugieren Sie das Gemisch 3 Minuten lang bei 300 x g, um die Zellen abzutrennen, und werfen Sie den Überstand mit dem restlichen Gefriermedium vorsichtig.
7. Das Zellpellet vorsichtig in 10 ml frischem Kulturmedium resuspendieren. Bei adhärenenten Zellen die Suspension auf zwei T25-Kulturflaschen aufteilen; bei Suspensionskulturen das gesamte Medium in eine T25-Flasche überführen, um eine effektive Zellinteraktion und ein effektives Wachstum zu fördern.
8. Halten Sie sich an die festgelegten Subkulturprotokolle, um ein kontinuierliches Wachstum und die Aufrechterhaltung der Zelllinie zu gewährleisten und zuverlässige Versuchsergebnisse zu erzielen.

**Incubation  
Atmosphere**

37°C, 5% CO<sub>2</sub>, befeuchtete Atmosphäre.

**Flask Coating**

Keine

**Freezing  
Procedure**

Kryokonservierte Zelllinien werden auf Trockeneis in einer validierten, isolierten Verpackung mit ausreichend Kühlmittel versandt, um während des gesamten Transports eine Temperatur von etwa -78 °C aufrechtzuerhalten. Prüfen Sie den Behälter bei Erhalt sofort und bringen Sie die Fläschchen unverzüglich in ein geeignetes Lager.

**L-WRN-Zellen | 300641**

**Shipping  
Conditions**

Kryokonservierte Zelllinien werden auf Trockeneis in einer validierten, isolierten Verpackung mit ausreichend Kühlmittel versandt, um während des gesamten Transports eine Temperatur von etwa -78 °C aufrechtzuerhalten. Prüfen Sie den Behälter bei Erhalt sofort und bringen Sie die Fläschchen unverzüglich in ein geeignetes Lager.

**Storage  
Conditions**

Zur Langzeitkonservierung werden die Fläschchen in flüssigem Stickstoff bei etwa -150 bis -196 °C gelagert. Eine Lagerung bei -80 °C ist nur als kurzer Zwischenschritt vor der Überführung in flüssigen Stickstoff akzeptabel.

**Qualitätskontrolle / Genetisches Profil / HLA**

**Sterility**

Eine Kontamination mit Mykoplasmen wird sowohl durch PCR-basierte Assays als auch durch lumineszenzbasierte Mykoplasmen-Nachweisverfahren ausgeschlossen.

Um sicherzustellen, dass keine Kontamination mit Bakterien, Pilzen oder Hefen vorliegt, werden die Zellkulturen täglich visuell überprüft.