Product sheet

Κύτταρα L-WRN | 300641

Γενικές πληροφορίες

Description	Η κυτταρική σειρά L-WRN είναι μια κυτταρική σειρά ινοβλαστών ποντικού που προέρχεται από τα κύτταρα L, τα οποία είναι ινοβλάστες ποντικού που απομονώθηκαν αρχικά από συνδετικό ιστό. Τα κύτταρα L-WRN έχουν τροποποιηθεί ώστε να εκφράζουν σταθερά τα Wnt3a, R-spondin 3 και Noggin. Αυτοί οι παράγοντες είναι κρίσιμοι για την ανάπτυξη και τη διατήρηση εντερικών οργανοειδών και καλλιεργειών βλαστικών κυττάρων. Η υπερέκφραση αυτών των πρωτεϊνών ενισχύει τον πολλαπλασιασμό και τη διαφοροποίηση των εντερικών βλαστικών κυττάρων, καθιστώντας τα κύτταρα L-WRN ένα πολύτιμο εργαλείο για τη μελέτη της εντερικής βιολογίας και τη μοντελοποίηση ασθενειών. Εκτός από την εφαρμογή τους στην καλλιέργεια οργανοειδών, τα κύτταρα L-WRN χρησιμεύουν ως ισχυρό μοντέλο για τη διερεύνηση των σηματοδοτικών μονοπατιών Wnt. Η σηματοδότηση Wnt είναι καθοριστικής σημασίας για τη ρύθμιση της κυτταρικής μοίρας, του πολλαπλασιασμού και της μετανάστευσης κατά τη διάρκεια της ανάπτυξης και στους ενήλικους ιστούς. Παρέχοντας μια συνεπή και ελεγχόμενη πηγή Wnt3a, R-spondin 3 και Noggin, τα κύτταρα L-WRN διευκολύνουν την έρευνα των μοριακών μηχανισμών που διέπουν αυτές τις διαδικασίες. Οι ερευνητές μπορούν να χρησιμοποιήσουν αυτά τα κύτταρα για να αναλύσουν τους ρόλους αυτών των σηματοδοτικών μορίων σε διάφορα βιολογικά πλαίσια, συμπεριλαμβανομένου του καρκίνου, της αναγέννησης ιστών και της αναπτυξιακής βιολογίας. Συνολικά, η κυτταρική σειρά L-WRN είναι ένα ισχυρό εργαλείο στη βιοϊατρική έρευνα λόγω της ικανότητάς της να υποστηρίζει την ανάπτυξη πολύπλοκων τρισδιάστατων καλλιεργειών και της χρησιμότητάς της στη μελέτη βασικών σηματοδοτικών μονοπατιών. Ο ρόλος της στην προώθηση της έρευνας των εντερικών βλαστικών κυττάρων και η συμβολή της στην κατανόηση της σηματοδότησης Wnt αναδεικνύουν τη σημασία της στον τομέα της κυτταρικής και μοριακής βιολογίας.
Organism	Ποντίκι
Tissue	Συνδετικός ιστός
Applications	3D καλλιέργεια κυττάρων

Χαρακτηριστικά

Breed/Subspecies	C3H/An
Age	100 ημέρες
Gender	Άντρας
Morphology	Ινοβλάστες
Growth properties	Προσκολλημένο

Κύτταρα L-WRN | 300641

Ρυθμιστικά δεδομένα

Citation	L-WRN (αριθμός καταλόγου Cytion 300641)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_DA06
GMO Status	GMO-S1: Αυτή η κυτταρική σειρά που προέρχεται από ποντίκια NIH-3T3 (L-WRN) περιέχει κατασκευάσματα έκφρασης για Wnt3a, R-spondin-3 και Noggin, συμπεριλαμβανομένων αλληλουχιών DNA SV40 και διπλών αντιβιοτικών δεικτών (hph και Tn5-neo), επιτρέποντας την έκκριση αυτών των μορίων σηματοδότησης. Τα ένθετα είναι σταθερά παρόντα σε κύτταρα με βάση το NIH-3T3. Αυτή η ταξινόμηση ισχύει μόνο εντός της Γερμανίας και ενδέχεται να διαφέρει σε άλλες χώρες.

Βιομοριακά δεδομένα

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

Χειρισμός

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/L γλυκόζη, w: 4 mM L-γλουταμίνη, w: 3,7 g/L NaHCO3, w: 1,0 mM πυρουβικό νάτριο (αριθμός άρθρου Cytion 820300a)
Supplements	Συμπληρώστε το μέσο με 10% FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Αφαιρέστε το παλιό μέσο από τα προσκολλημένα κύτταρα και πλύντε τα με PBS που δεν περιέχει ασβέστιο και μαγνήσιο. Για φιάλες T25, χρησιμοποιήστε 3-5 ml PBS και για φιάλες T75, χρησιμοποιήστε 5-10 ml. Στη συνέχεια, καλύψτε πλήρως τα κύτταρα με Accutase, χρησιμοποιώντας 1-2 ml για φιάλες T25 και 2,5 ml για φιάλες T75. Αφήστε τα κύτταρα να επωαστούν σε θερμοκρασία δωματίου για 8-10 λεπτά για να αποκολληθούν. Μετά την επώαση, αναμείξτε απαλά τα κύτταρα με 10 ml μέσου για να ανασυσταθούν και, στη συνέχεια, φυγοκεντρίστε στα 300xg για 3 λεπτά. Απορρίψτε το υπερκείμενο υγρό, ανασυστάστε τα κύτταρα σε φρέσκο μέσο και μεταφέρετέ τα σε νέες φιάλες που περιέχουν ήδη φρέσκο μέσο.
Freeze medium	Ως μέσο κρυοσυντήρησης, χρησιμοποιούμε πλήρες μέσο ανάπτυξης (συμπεριλαμβανομένου του FBS) + 10% DMSO για επαρκή βιωσιμότητα μετά την απόψυξη, ή CM-1 (αριθμός καταλόγου Cytion 800100), το οποίο περιλαμβάνει βελτιστοποιημένα ωσμοπροστατευτικά και μεταβολικούς σταθεροποιητές για την ενίσχυση της ανάκαμψης και τη μείωση του στρες που προκαλείται από την κρυοσυντήρηση.

Κύτταρα L-WRN | 300641

Thawing and Culturing Cells

1. Επιβεβαιώστε ότι το φιαλίδιο παραμένει βαθιά παγωμένο κατά την παράδοση, καθώς τα κύτταρα αποστέλλονται σε ξηρό πάγο για να διατηρούνται οι βέλτιστες θερμοκρασίες κατά τη μεταφορά.

2. Κατά την παραλαβή, είτε αποθηκεύστε το κρυοφιαλίδιο αμέσως σε θερμοκρασίες κάτω των -150°C για να διασφαλίσετε τη διατήρηση της κυτταρικής ακεραιότητας, είτε προχωρήστε στο βήμα 3 εάν απαιτείται άμεση καλλιέργεια.

3. Για άμεση καλλιέργεια, αποψύξτε γρήγορα το φιαλίδιο βυθίζοντάς το σε υδατόλουτρο 37°C με καθαρό νερό και αντιμικροβιακό παράγοντα, αναδεύοντας απαλά για 40-60 δευτερόλεπτα μέχρι να παραμείνει ένα μικρό σβόλο πάγου.

4. Εκτελέστε όλα τα επόμενα βήματα υπό αποστειρωμένες συνθήκες σε απορροφητήρα ροής, απολυμαίνοντας το κρυοφιαλίδιο με 70% αιθανόλη πριν από το άνοιγμα.

5. Ανοίξτε προσεκτικά το απολυμασμένο φιαλίδιο και μεταφέρετε το εναιώρημα των κυττάρων σε ένα σωληνάριο φυγοκέντρησης των 15 ml που περιέχει 8 ml θρεπτικού μέσου καλλιέργειας σε θερμοκρασία δωματίου, αναμειγνύοντας απαλά.

6. Φυγοκεντρίστε το μείγμα στα 300 x g για 3 λεπτά για να διαχωριστούν τα κύτταρα και απορρίψτε προσεκτικά το υπερκείμενο που περιέχει το υπόλοιπο μέσο κατάψυξης.

7. Επανασυσσωματώστε απαλά το κυτταρικό σφαιρίδιο σε 10 ml φρέσκου μέσου καλλιέργειας. Για προσκολλημένα κύτταρα, μοιράστε το εναιώρημα σε δύο φιάλες καλλιέργειας T25- για καλλιέργειες εναιωρήματος, μεταφέρετε όλο το μέσο σε μία φιάλη T25 για να προωθήσετε την αποτελεσματική αλληλεπίδραση και ανάπτυξη των κυττάρων.

8. Τηρείτε τα καθιερωμένα πρωτόκολλα υποκαλλιέργειας για τη συνεχή ανάπτυξη και διατήρηση της κυτταρικής σειράς, εξασφαλίζοντας αξιόπιστα πειραματικά αποτελέσματα.

Incubation Atmosphere

37°C, 5%$_{CO2}$, υγροποιημένη ατμόσφαιρα.

Flask Coating

Για βέλτιστη προσκόλληση και βιωσιμότητα μετά την απόψυξη, συνιστούμε τη χρήση **φιαλών ή πλακών με επικάλυψη κολλαγόνου**.

Freezing Procedure

Οι κρυοσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των -78 °C καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.

Κύτταρα L-WRN | 300641

Shipping Conditions	Οι κρυοσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των -78 °C καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.
Storage Conditions	Για μακροχρόνια συντήρηση, τοποθετήστε τα φιαλίδια σε υγρό άζωτο σε φάση ατμών σε θερμοκρασία περίπου -150 έως -196 °C. Η αποθήκευση στους -80 °C είναι αποδεκτή μόνο ως σύντομο ενδιάμεσο βήμα πριν από τη μεταφορά σε υγρό άζωτο.

Ποιοτικός έλεγχος / Γενετικό προφίλ / HLA

Sterility	Η μόλυνση από μυκόπλασμα αποκλείεται με τη χρήση τόσο των δοκιμασιών που βασίζονται στην PCR όσο και των μεθόδων ανίχνευσης μυκοπλάσματος με βάση τη φωταύγεια. Για να διασφαλιστεί ότι δεν υπάρχει μόλυνση από βακτήρια, μύκητες ή ζύμες, οι κυτταροκαλλιέργειες υποβάλλονται σε καθημερινές οπτικές επιθεωρήσεις.