

**Células L-WRN | 300641****Información general****Description**

La línea celular L-WRN es una línea celular de fibroblastos murinos derivada de las células L, que son fibroblastos de ratón aislados originalmente del tejido conjuntivo. Las células L-WRN han sido diseñadas para expresar de forma estable Wnt3a, R-spondin 3 y Noggin. Estos factores son críticos para el crecimiento y mantenimiento de organoides intestinales y cultivos de células madre. La sobreexpresión de estas proteínas potencia la proliferación y diferenciación de las células madre intestinales, lo que convierte a las células L-WRN en una valiosa herramienta para el estudio de la biología intestinal y el modelado de enfermedades.

Además de su aplicación en el cultivo de organoides, las células L-WRN sirven como modelo robusto para investigar las vías de señalización Wnt. La señalización Wnt es fundamental en la regulación del destino celular, la proliferación y la migración durante el desarrollo y en los tejidos adultos. Al proporcionar una fuente consistente y controlada de Wnt3a, R-spondin 3 y Noggin, las células L-WRN facilitan la investigación de los mecanismos moleculares subyacentes a estos procesos. Los investigadores pueden utilizar estas células para diseccionar las funciones de estas moléculas de señalización en diversos contextos biológicos, como el cáncer, la regeneración de tejidos y la biología del desarrollo.

En general, la línea celular L-WRN es una poderosa herramienta en la investigación biomédica debido a su capacidad para soportar el crecimiento de cultivos tridimensionales complejos y a su utilidad para estudiar vías de señalización clave. Su papel en el avance de la investigación sobre células madre intestinales y sus contribuciones a nuestra comprensión de la señalización Wnt ponen de relieve su importancia en el campo de la biología celular y molecular.

<b>Organism</b>	Ratón
<b>Tissue</b>	Tejido conjuntivo
<b>Applications</b>	cultivo celular 3D

**Características**

<b>Breed/Subspecies</b>	C3H/An
<b>Age</b>	100 días
<b>Gender</b>	Hombre
<b>Morphology</b>	Fibroblastos
<b>Growth properties</b>	Adherente

**Datos reglamentarios**

**Células L-WRN | 300641**

<b>Citation</b>	L-WRN (número de catálogo 300641 de Cytion)
<b>Biosafety level</b>	1
<b>NCBI_TaxID</b>	9606
<b>CellosaurusAccession</b>	CVCL_DA06
<b>GMO Status</b>	GMO-S1: Esta línea celular murina derivada de NIH-3T3 (L-WRN) contiene construcciones de expresión para Wnt3a, R-spondin-3 y Noggin, incluidas secuencias de ADN SV40 y marcadores antibióticos duales (hph y Tn5-neo), lo que permite la secreción de estas moléculas de señalización. Los insertos están presentes de forma estable en las células basadas en NIH-3T3. Esta clasificación solo se aplica dentro de Alemania y puede diferir en otros lugares.

**Datos biomoleculares**

<b>Protein expression</b>	Wnt-3A, R-espondina, nogina
---------------------------	-----------------------------

**Manejo de**

<b>Culture Medium</b>	DMEM, w: 4,5 g/L de glucosa, w: 4 mM de L-glutamina, w: 3,7 g/L de NaHCO <sub>3</sub> , w: 1,0 mM de piruvato sódico (número de artículo de Cytion 820300a)
<b>Supplements</b>	Complementar el medio con un 10% de FBS
<b>Dissociation Reagent</b>	Accutase
<b>Subculturing</b>	Retire el medio antiguo de las células adheridas y lávelas con PBS que carezca de calcio y magnesio. Para matraces T25, utilice 3-5 ml de PBS, y para matraces T75, utilice 5-10 ml. A continuación, cubra completamente las células con Accutase, utilizando 1-2 ml para matraces T25 y 2,5 ml para matraces T75. Deje incubar las células a temperatura ambiente durante 8-10 minutos para desprenderlas. Tras la incubación, mezclar suavemente las células con 10 ml de medio para resuspenderlas y, a continuación, centrifugar a 300xg durante 3 minutos. Desechar el sobrenadante, resuspender las células en medio fresco y transferirlas a nuevos matraces que ya contengan medio fresco.
<b>Freeze medium</b>	Como medio de criopreservación, utilizamos el medio de crecimiento completo (incluido FBS) + 10% DMSO para una viabilidad adecuada tras la descongelación, o CM-1 (número de catálogo 800100 de Cytion), que incluye osmoprotectores optimizados y estabilizadores metabólicos para mejorar la recuperación y reducir el estrés crioinducido.

## Células L-WRN | 300641

### Thawing and Culturing Cells

1. Confirme que el vial permanece profundamente congelado en el momento de la entrega, ya que las células se envían en hielo seco para mantener temperaturas óptimas durante el transporte.
2. Tras la recepción, almacene el criovial inmediatamente a temperaturas inferiores a  $-150^{\circ}\text{C}$  para garantizar la conservación de la integridad celular, o proceda al paso 3 si se requiere el cultivo inmediato.
3. Para el cultivo inmediato, descongele rápidamente el vial sumergiéndolo en un baño de agua a  $37^{\circ}\text{C}$  con agua limpia y un agente antimicrobiano, agitando suavemente durante 40-60 segundos hasta que quede un pequeño grumo de hielo.
4. Realice todos los pasos siguientes en condiciones estériles en una campana de flujo, desinfectando el criovial con etanol al 70% antes de abrirlo.
5. Abrir con cuidado el vial desinfectado y transferir la suspensión celular a un tubo de centrifuga de 15 ml que contenga 8 ml de medio de cultivo a temperatura ambiente, mezclando suavemente.
6. Centrifugar la mezcla a  $300 \times g$  durante 3 minutos para separar las células y desechar cuidadosamente el sobrenadante que contiene medio de congelación residual.
7. Resuspender suavemente el sedimento celular en 10 ml de medio de cultivo fresco. Para las células adherentes, dividir la suspensión entre dos matraces de cultivo T25; para los cultivos en suspensión, transferir todo el medio a un matraz T25 para promover la interacción y el crecimiento celular efectivos.
8. Siga los protocolos de subcultivo establecidos para el crecimiento y mantenimiento continuos de la línea celular, garantizando resultados experimentales fiables.

### Incubation Atmosphere

$37^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , atmósfera humidificada.

### Flask Coating

Ninguno

### Freezing Procedure

Las líneas celulares crioconservadas se envían en hielo seco en envases validados y aislados con suficiente refrigerante para mantener aproximadamente  $-78^{\circ}\text{C}$  durante el tránsito. A la recepción, inspeccione el envase inmediatamente y transfiera los viales sin demora al almacenamiento adecuado.

### Shipping Conditions

Las líneas celulares crioconservadas se envían en hielo seco en envases validados y aislados con suficiente refrigerante para mantener aproximadamente  $-78^{\circ}\text{C}$  durante el tránsito. A la recepción, inspeccione el envase inmediatamente y transfiera los viales sin demora al almacenamiento adecuado.

## Células L-WRN | 300641

### Storage Conditions

Para la conservación a largo plazo, coloque los viales en nitrógeno líquido en fase vapor a una temperatura aproximada de -150 a -196 °C. El almacenamiento a -80 °C sólo es aceptable como breve paso intermedio antes de la transferencia al nitrógeno líquido.

## Control de calidad / Perfil genético / HLA

### Sterility

La contaminación por micoplasma se excluye utilizando tanto ensayos basados en la PCR como métodos de detección de micoplasma basados en la luminiscencia.

Para garantizar la ausencia de contaminación bacteriana, fúngica o por levaduras, los cultivos celulares se someten a inspecciones visuales diarias.