

L-WRN rakud | 300641

Üldine teave

Description

L-WRN rakuliin on hiirte fibroblastide rakuliin, mis on saadud L-rakkudest, mis on hiirte fibroblastid, mis on algselt eraldatud sidekoest. L-WRN rakud on loodud nii, et nad ekspresseerivad stabiilselt Wnt3a, R-spondiin 3 ja Noggin. Need faktorid on kriitilise tähtsusega soole organoidide ja tüvirakkukultuuride kasvuks ja säilitamiseks. Nende valkude üleekspressioon suurendab soolestiku tüvirakkude proliferatsiooni ja diferentseerumist, mistõttu on L-WRN rakud väärtuslik vahend soolestiku bioloogia uurimiseks ja haiguste modelleerimiseks.

Lisaks nende kasutamisele organoidide kasvatamisel on L-WRN rakud ka usaldusväärne mudel Wnt-signaalaradade uurimiseks. Wnt-signalisatsioon on keskse tähtsusega rakkude saatuse, proliferatsiooni ja migratsiooni reguleerimisel arengu ajal ja täiskasvanud kudedes. Kuna L-WRN rakud pakuvad järjepidevat ja kontrollitud Wnt3a, R-spondiin 3 ja Noggin allikat, hõlbustavad nende protsesside aluseks olevate molekulaarsete mehhanismide uurimist. Teadlased saavad neid rakke kasutada nende signaalimolekulide rolli uurimiseks erinevates bioloogilistes kontekstides, sealhulgas vähi, kudede regenereerimise ja arengubioloogia valdkonnas.

Üldiselt on L-WRN rakuliin võimas vahend biomeditsiiniuuringutes, kuna see toetab keeruliste kolmemõõtmeliste kultuuride kasvu ja on kasulik põhiliste signaaliradade uurimisel. Selle roll soolestiku tüvirakkude uurimise edendamisel ja panus Wnt-signalisatsiooni mõistmise rõhutavad selle tähtsust raku- ja molekulaarbioloogia valdkonnas.

Organism Hiir

Tissue Sidekude

Applications 3D rakukultuur

Omadused

Breed/Subspecies C3H/An

Age 100 päeva

Gender Mees

Morphology Fibroblastide

Growth properties Kinnipeetav

Regulatiivsed andmed

Citation L-WRN (Cytioni katalooginumbr 300641)

L-WRN rakud | 300641**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_DA06**GMO Status** GMO-S1: See hiirtelt NIH-3T3-st saadud rakuliin (L-WRN) sisaldab Wnt3a, R-spondin-3 ja Noggin ekspressioonikonstruktsioone, sealhulgas SV40 DNA järjestusi ja kahe antibiootikumimarkerit (hph ja Tn5-neo), mis võimaldavad nende signaalmolekulide sekretsiooni. Sisestused on stabiilselt olemas NIH-3T3-põhistes rakkudes. See klassifikatsioon kehtib ainult Saksamaal ja võib mujal erineda.**Biomolekulaarsed andmed****Protein expression** Wnt-3A, R-spondiin, noggin**Töötlemine****Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/L glükoosi, w: 4 mM L-glutamiini, w: 3,7 g/L NaHCO₃, w: 1,0 mM naatriumpüruvaati (Cytioni artikli number 820300a)**Supplements** Täiendada söötme 10% FBS-ga**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Eemaldage kleepunud rakkudelt vana söötme ja peske neid PBS-ga, milles puudub kaltsium ja magneesium. T25 kolbide puhul kasutage 3-5 ml PBS-i ja T75 kolbide puhul 5-10 ml. Seejärel katke rakud täielikult Accutase'iga, kasutades 1-2 ml T25 kolbide puhul ja 2,5 ml T75 kolbide puhul. Laske rakkudel inkubeerida 8-10 minutit toatemperatuuril, et need eralduksid. Pärast inkubeerimist segage rakud ettevaatlikult 10 ml söötmega, et neid resuspenseerida, seejärel tsentrifugeerige 3 minutit 300xg juures. Visake supernatant ära, suspenseerige rakud uuesti värskes keskkonnas ja viige need uutesse kolvidesse, mis sisaldavad juba värsket keskkonda.**Freeze medium** Krüosäilitusvedelikusena kasutame täielikku kasvukeskkonda (sh FBS) + 10% DMSO, et tagada piisav elujõulisus pärast sulatamist, või CM-1 (Cytioni katalooginumber 800100), mis sisaldab optimeeritud osmoprotektante ja metaboolseid stabilisaatoreid, et parandada taastumist ja vähendada krüostressi.

L-WRN rakud | 300641**Thawing and
Culturing Cells**

1. Veenduge, et vial jääb tarnimisel sügavkülmutatud, sest rakud transporditakse kuiva jääga, et säilitada optimaalne temperatuur transpordi ajal.
2. Pärast kättesaamist säilitage krüoviaal kas kohe temperatuuril alla $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, et tagada rakkude terviklikkuse säilimine, või jätkake sammuga 3, kui on vaja koheselt kultiveerida.
3. Kohese kultiveerimise korral sulatage viali kiiresti, kastes selle $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ veevanni puhta vee ja antimikroobse ainega, segades seda õrnalt 40-60 sekundit, kuni alles jääb väike jääklomp.
4. Tehke kõik järgmised toimingud steriilsetes tingimustes vooluhoodis, desinfitseerides krüoviaal enne avamist 70% etanooliga.
5. Avage desinfitseeritud viali ettevaatlikult ja viige raku suspensioon ettevaatlikult segades 15 ml tsentrifuugitorusse, mis sisaldab 8 ml toatemperatuuril olevat kasvukeskkonda.
6. Rakkude eraldamiseks tsentrifuugige segu $300 \times g$ juures 3 minutit ja visake ülejäänud külmutusvedelikku sisaldav supernatant ettevaatlikult ära.
7. Resuspendeerige rakupellet ettevaatlikult 10 ml värskes kasvukeskkonnas. Adhereerivate rakkude puhul jagage suspensioon kahe T25 kultuurkolvi vahel; suspensioonikultuuride puhul kandke kogu söötme keskkond ühte T25 kolbi, et soodustada rakkude tõhusat koostoimet ja kasvu.
8. Järgige kehtestatud subkultuuriprotokolle rakuliini jätkuvaks kasvuks ja säilitamiseks, tagades usaldusväärsed katsetulemused.

**Incubation
Atmosphere**

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , niisutatud atmosfäär.

Flask Coating

Puudub

**Freezing
Procedure**

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

**Shipping
Conditions**

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

L-WRN rakud | 300641

Storage Conditions

Pikaajaliseks säilitamiseks asetage viaalid aurufaasis vedela lämmastikuga umbes -150 kuni -196 °C juures. Säilitamine temperatuuril -80 °C on vastuvõetav ainult lühikese vaheetapina enne vedela lämmastikuga üleviimist.

Kvaliteedikontroll / Geneetiline profiil / HLA

Sterility

Mükoplasmakontaminatsioon on välistatud nii PCR-põhiste analüüside kui ka luminesentsil põhinevate mükoplasma tuvastamise meetodite abil.

Bakteriaalse, seene- või pärmsaaste puudumise tagamiseks kontrollitakse rakukultuure iga päev visuaalselt.