

L-WRN-solut | 300641

Yleisiä tietoja

Description

L-WRN-solulinja on hiiren fibroblastisolulinja, joka on peräisin L-soluista, jotka ovat hiiren fibroblasteja, jotka on alun perin eristetty sidekudoksesta. L-WRN-solut on muunnettu ilmentämään vakaasti Wnt3a:ta, R-spondiini 3:a ja Nogginia. Nämä tekijät ovat kriittisiä suoliston organoidien ja kantasoluviljelmien kasvulle ja ylläpidolle. Näiden proteiinien yliekspressio lisää suoliston kantasolujen lisääntymistä ja erilaistumista, mikä tekee L-WRN-soluista arvokkaan välineen suoliston biologian tutkimiseen ja sairauksien mallintamiseen.

Sen lisäksi, että L-WRN-soluja käytetään organoidiviljelyssä, ne ovat vankka malli Wnt-signalointireittien tutkimiseen. Wnt-signalointi on keskeistä solujen kohtalon, proliferaation ja migraation säätelyssä kehityksen aikana ja aikuiskudoksissa. Tarjoamalla johdonmukaisen ja kontrolloidun lähteen Wnt3a:lle, R-spondiini 3:lle ja Nogginille L-WRN-solut helpottavat näiden prosessien taustalla olevien molekyylimekanismien tutkimusta. Tutkijat voivat käyttää näitä soluja analysoidakseen näiden signaalimolekyylien roolia erilaisissa biologisissa yhteyksissä, kuten syövässä, kudosten uudistumisessa ja kehitysbiologiassa.

Kaiken kaikkiaan L-WRN-solulinja on tehokas väline biolääketieteellisessä tutkimuksessa, koska se kykenee tukemaan monimutkaisten kolmiulotteisten viljelmien kasvua ja on hyödyllinen keskeisten signaalireittien tutkimisessa. Sen rooli suoliston kantasolututkimuksen edistämässä ja sen panos Wnt-signaloinnin ymmärtämisessä korostavat sen merkitystä solu- ja molekyylibiologian alalla.

Organism

Hiiri

Tissue

Sidekudos

Applications

3D-soluviljely

Ominaisuudet

Breed/Subspecies

C3H/An

Age

100 päivää

Gender

Mies

Morphology

Fibroblastit

Growth properties

Tarttuva

Säätelytiedot

Citation

L-WRN (Cytionin luettelonumero 300641)

L-WRN-solut | 300641

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 10090

CellosaurusAccession CVCL_DA06

GMO Status GMO-S1: Tämä hiirestä peräisin oleva NIH-3T3-solulinja (L-WRN) sisältää Wnt3a-, R-spondin-3- ja Noggin-ilmentymiskonstruktit, mukaan lukien SV40-DNA-sekvenssit ja kaksoisantibioottimarkkerit (hph ja Tn5-neo), jotka mahdollistavat näiden signaalimolekyylien erityksen. Insertit ovat stabiilisti läsnä NIH-3T3-pohjaisissa soluissa. Tämä luokitus koskee vain Saksaa ja voi olla muualla erilainen.

Biomolekyylitiedot

Protein expression Wnt-3A, R-spondiini, noggiini

Käsittely

Culture Medium DMEM, w: 4,5 g/l glukoosia, w: 4 mM L-glutamiinia, w: 3,7 g/l NaHCO₃, w: 1,0 mM natriumpyruvaattia (Cytionin artikkelinumero 820300a)

Supplements Täydennetään elatusainetta 10 %:lla FBS:llä

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Poista vanha väliaine tarttuneista soluista ja pese ne PBS:llä, josta puuttuu kalsiumia ja magnesiumia. Käytä T25-pulloissa 3-5 ml PBS:ää ja T75-pulloissa 5-10 ml. Peitä sitten solut kokonaan Accutase-valmisteella, käyttäen 1-2 ml T25-pulloissa ja 2,5 ml T75-pulloissa. Anna solujen inkuboitua huoneenlämmössä 8-10 minuuttia solujen irtoamiseksi. Inkuboinnin jälkeen solut sekoitetaan varovasti 10 ml:n väliaineella niiden resuspendoimiseksi ja sentrifugoidaan sitten 300xg:n nopeudella 3 minuutin ajan. Hävitä supernatantti, suspendoi solut uudelleen tuoreeseen väliaineeseen ja siirrä ne uusiin pulloihin, jotka sisältävät jo tuoretta väliainetta.

Freeze medium Kryosäilytysmediana käytämme täydellistä kasvualustaa (mukaan lukien FBS) + 10 % DMSO:ta riittävän sulatuksen jälkeisen elinkelpoisuuden varmistamiseksi tai CM-1:tä (Cytionin luettelonumero 800100), joka sisältää optimoituja osmoprotektantteja ja metabolisia stabilisaattoreita, jotka parantavat elpymistä ja vähentävät kryosäilytyksen aiheuttamaa stressiä.

L-WRN-solut | 300641

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Varmista, että injektiopullo pysyy syväjäädetyttynä toimitettaessa, sillä solut kuljetetaan kuivajäädessä, jotta optimaalinen lämpötila säilyy kuljetuksen aikana.
2. Vastaanottaessa kryopullo joko säilytetään välittömästi alle -150 °C:n lämpötilassa solujen eheyden säilyttämiseksi tai edetään vaiheeseen 3, jos tarvitaan välitöntä viljelyä.
3. Välitöntä viljelyä varten sulata injektiopullo nopeasti upottamalla se 37 °C:n vesihauteeseen, jossa on puhdasta vettä ja mikrobilääkettä, ja sekoittamalla sitä varovasti 40-60 sekunnin ajan, kunnes jäädästä on jäljellä pieni jäämöhkäle.
4. Suorita kaikki seuraavat vaiheet steriileissä olosuhteissa virtaushupussa ja desinfioi kryopullo 70-prosenttisella etanolilla ennen avaamista.
5. Avaa desinfioitu injektiopullo varovasti ja siirrä solususpensio 15 ml:n sentrifugiputkeen, joka sisältää 8 ml huoneenlämpöistä elatusainetta, varovasti sekoittaen.
6. Sentrifugoi seosta 300 x g:n voimakkuudella 3 minuutin ajan solujen erottamiseksi ja hävitä varovasti supernatantti, joka sisältää jäännöspakastusmediumia.
7. Suspendoidaan solupelletti varovasti uudelleen 10 ml:aan tuoretta elatusainetta. Jos solut ovat tarttuvia, jaa suspensio kahden T25-kolvin kesken; jos kyseessä ovat suspensioviljelmät, siirrä kaikki väliaine yhteen T25-kolviin solujen tehokkaan vuorovaikutuksen ja kasvun edistämiseksi.
8. Noudata vakiintuneita aliviljelyprotokollia solulinjan jatkuvan kasvun ja ylläpidon varmistamiseksi ja luotettavien kokeellisten tulosten varmistamiseksi.

**Incubation
Atmosphere**

37 °C, 5 % CO_2 , kostutettu ilmakehä.

Flask Coating

Ei mitään

**Freezing
Procedure**

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäädessä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

**Shipping
Conditions**

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäädessä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

L-WRN-solut | 300641

Storage Conditions

Pitkäaikaissäilytystä varten injektiopullot asetetaan höyryfaasissa olevaan nestemäiseen tyypeen noin -150 - -196 °C:een. Säilytys -80 °C:ssa on hyväksyttävää vain lyhyenä välivaiheena ennen siirtoa nestemäiseen tyypeen.

Laadunvalvonta ja molekyylianalyysi

Sterility

Mykoplasmakontaminaatio suljetaan pois sekä PCR-pohjaisilla määrittelyillä että luminesenssiin perustuvilla mykoplasman osoitusmenetelmillä.

Bakteeri-, sieni- tai hiivakontaminaation välttämiseksi soluviljelmät tarkastetaan päivittäin silmämääräisesti.