

Cellules L-WRN | 300641**Informations générales****Description**

La lignée cellulaire L-WRN est une lignée cellulaire de fibroblastes murins dérivée des cellules L, qui sont des fibroblastes de souris isolés à l'origine du tissu conjonctif. Les cellules L-WRN ont été modifiées pour exprimer de façon stable Wnt3a, R-spondin 3 et Noggin. Ces facteurs sont essentiels à la croissance et au maintien des organoïdes intestinaux et des cultures de cellules souches. La surexpression de ces protéines améliore la prolifération et la différenciation des cellules souches intestinales, ce qui fait des cellules L-WRN un outil précieux pour l'étude de la biologie intestinale et la modélisation des maladies.

Outre leur application à la culture d'organoïdes, les cellules L-WRN constituent un modèle robuste pour l'étude des voies de signalisation Wnt. La signalisation Wnt joue un rôle essentiel dans la régulation du destin, de la prolifération et de la migration des cellules au cours du développement et dans les tissus adultes. En fournissant une source cohérente et contrôlée de Wnt3a, de R-spondine 3 et de Noggin, les cellules L-WRN facilitent la recherche sur les mécanismes moléculaires qui sous-tendent ces processus. Les chercheurs peuvent utiliser ces cellules pour disséquer les rôles de ces molécules de signalisation dans divers contextes biologiques, y compris le cancer, la régénération des tissus et la biologie du développement.

Dans l'ensemble, la lignée cellulaire L-WRN est un outil puissant pour la recherche biomédicale en raison de sa capacité à soutenir la croissance de cultures tridimensionnelles complexes et de son utilité pour l'étude des voies de signalisation clés. Son rôle dans l'avancement de la recherche sur les cellules souches intestinales et ses contributions à notre compréhension de la signalisation Wnt soulignent son importance dans le domaine de la biologie cellulaire et moléculaire.

Organism Souris**Tissue** Tissu conjonctif**Applications** culture cellulaire en 3D**Caractéristiques****Breed/Subspecies** C3H/An**Age** 100 jours**Gender** Homme**Morphology** Fibroblaste**Growth properties** Adhérent**Données réglementaires**

Cellules L-WRN | 300641

Citation	L-WRN (numéro de catalogue Cytion 300641)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_DA06
GMO Status	GMO-S1 : cette lignée cellulaire murine dérivée de NIH-3T3 (L-WRN) contient des constructions d'expression pour Wnt3a, R-spondin-3 et Noggin, y compris des séquences d'ADN SV40 et des marqueurs antibiotiques doubles (hph et Tn5-neo), permettant la sécrétion de ces molécules de signalisation. Les inserts sont présents de manière stable dans les cellules dérivées de NIH-3T3. Cette classification s'applique uniquement en Allemagne et peut différer ailleurs.

Données biomoléculaires

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

Manipulation

Culture Medium	DMEM, w : 4.5 g/L Glucose, w : 4 mM L-Glutamine, w : 3.7 g/L NaHCO ₃ , w : 1.0 mM Pyruvate de sodium (numéro d'article Cytion 820300a)
Supplements	Compléter le milieu avec 10% de FBS
Dissociation Reagent	Accutase

Subculturing Retirer l'ancien milieu des cellules adhérentes et les laver avec du PBS dépourvu de calcium et de magnésium. Pour les flacons T25, utiliser 3-5 ml de PBS, et pour les flacons T75, 5-10 ml. Ensuite, recouvrir complètement les cellules avec Accutase, en utilisant 1 à 2 ml pour les flacons T25 et 2,5 ml pour les flacons T75. Laisser les cellules incuber à température ambiante pendant 8-10 minutes pour les détacher. Après incubation, mélanger délicatement les cellules avec 10 ml de milieu pour les remettre en suspension, puis centrifuger à 300xg pendant 3 minutes. Jeter le surnageant, remettre les cellules en suspension dans du milieu frais et les transférer dans de nouveaux flacons contenant déjà du milieu frais.

Freeze medium Comme milieu de cryoconservation, nous utilisons un milieu de croissance complet (comprenant du FBS) + 10 % de DMSO pour une viabilité adéquate après décongélation, ou CM-1 (numéro de catalogue 800100 de Cytion), qui comprend des osmoprotectants et des stabilisateurs métaboliques optimisés pour améliorer la récupération et réduire le stress induit par la cryogénéisation.

Cellules L-WRN | 300641

Thawing and Culturing Cells

1. Confirmer que le flacon est toujours congelé à la livraison, car les cellules sont expédiées sur de la glace sèche pour maintenir des températures optimales pendant le transport.
2. Dès réception, soit conserver immédiatement le cryovial à des températures inférieures à -150°C pour assurer la préservation de l'intégrité cellulaire, soit passer à l'étape 3 si une mise en culture immédiate est nécessaire.
3. Pour une mise en culture immédiate, décongeler rapidement le flacon en l'immergeant dans un bain-marie à 37°C avec de l'eau propre et un agent antimicrobien, en l'agitant doucement pendant 40 à 60 secondes jusqu'à ce qu'il ne reste qu'un petit amas de glace.
4. Effectuer toutes les étapes suivantes dans des conditions stériles sous une hotte à flux, en désinfectant le cryovial avec de l'éthanol à 70 % avant de l'ouvrir.
5. Ouvrir soigneusement le flacon désinfecté et transférer la suspension cellulaire dans un tube à centrifuger de 15 ml contenant 8 ml de milieu de culture à température ambiante, en mélangeant doucement.
6. Centrifuger le mélange à 300 x g pendant 3 minutes pour séparer les cellules et jeter soigneusement le surnageant contenant le milieu de congélation résiduel.
7. Remettre doucement en suspension le culot cellulaire dans 10 ml de milieu de culture frais. Pour les cellules adhérentes, répartir la suspension entre deux flacons de culture T25 ; pour les cultures en suspension, transférer tout le milieu dans un seul flacon T25 afin de favoriser une interaction et une croissance efficaces des cellules.
8. Respecter les protocoles de sous-culture établis pour une croissance et un entretien continu de la lignée cellulaire, garantissant ainsi des résultats expérimentaux fiables.

Incubation Atmosphere

37°C, 5%_{CO2}, atmosphère humidifiée.

Flask Coating

Aucun

Freezing Procedure

Les lignées cellulaires cryoconservées sont expédiées sur glace sèche dans des emballages isolés et validés, avec suffisamment de réfrigérant pour maintenir une température d'environ -78 °C tout au long du transport. À la réception, inspecter immédiatement le conteneur et transférer sans délai les flacons dans un lieu de stockage approprié.

Cellules L-WRN | 300641

Shipping Conditions

Les lignées cellulaires cryoconservées sont expédiées sur glace sèche dans des emballages isolés et validés, avec suffisamment de réfrigérant pour maintenir une température d'environ -78 °C tout au long du transport. À la réception, inspecter immédiatement le conteneur et transférer sans délai les flacons dans un lieu de stockage approprié.

Storage Conditions

Pour une conservation à long terme, placer les flacons dans de l'azote liquide en phase vapeur à une température comprise entre -150 et -196 °C environ. Le stockage à -80 °C n'est acceptable qu'en tant qu'étape intermédiaire de courte durée avant le transfert dans l'azote liquide.

Contrôle de qualité / Profil génétique / HLA

Sterility

La contamination par les mycoplasmes est exclue à l'aide de tests basés sur la PCR et de méthodes de détection des mycoplasmes basées sur la luminescence.

Pour s'assurer de l'absence de contamination bactérienne, fongique ou levurienne, les cultures cellulaires font l'objet d'inspections visuelles quotidiennes.