

## L-WRN sejtek | 300641

## Általános információk

## Description

Az L-WRN sejtvonal egy egér fibroblaszt sejtvonal, amely az L sejtekből származik, amelyek eredetileg kötőszövetből izolált egér fibroblasztok. Az L-WRN sejteket úgy alakították ki, hogy stabilan expresszálják a Wnt3a, az R-spondin 3 és a Noggin sejteket. Ezek a faktorok kritikusak a bélorganoidok és őssejtkultúrák növekedéséhez és fenntartásához. E fehérjék túlterjedése fokozza a bél őssejtek proliferációját és differenciálódását, így az L-WRN sejtek értékes eszközzé válnak a bélbiológia és a betegségek modellezésének tanulmányozásához.

Az organoidkultúrában való alkalmazásuk mellett az L-WRN sejtek robusztus modellként szolgálnak a Wnt jelátviteli útvonalak vizsgálatához. A Wnt jelátvitel kulcsfontosságú a sejsors, a proliferáció és a migráció szabályozásában a fejlődés során és a felnőtt szövetekben. A Wnt3a, az R-spondin 3 és a Noggin konzisztens és ellenőrzött forrását biztosítva az L-WRN sejtek megkönnyítik az e folyamatok háttérben álló molekuláris mechanizmusok kutatását. A kutatók ezeket a sejteket felhasználhatják a jelátviteli molekulák szerepének feltárására különböző biológiai összefüggésekben, beleértve a rákot, a szöveti regenerációt és a fejlődésbiológiát.

Összességében az L-WRN sejtvonal hatékony eszköz az orvosi biológiai kutatásban, mivel képes komplex háromdimenziós kultúrák növekedését támogatni, és a kulcsfontosságú jelátviteli útvonalak tanulmányozására alkalmas. A bélrendszeri őssejtek kutatásában betöltött szerepe és a Wnt-szignálok megértéséhez való hozzájárulása kiemeli jelentőségét a sejt- és molekuláris biológia területén.

**Organism** Egér

**Tissue** Kötőszövet

**Applications** 3D sejt kultúra

## Jellemzők

**Breed/Subspecies** C3H/An

**Age** 100 nap

**Gender** Férfi

**Morphology** Fibroblasztok

**Growth properties** Adherent

## Szabályozási adatok

## L-WRN sejtek | 300641

<b>Citation</b>	L-WRN (Cytion katalógusszám: 300641)
<b>Biosafety level</b>	1
<b>NCBI_TaxID</b>	9606
<b>CellosaurusAccession</b>	CVCL_DA06
<b>GMO Status</b>	GMO-S1: Ez az egér NIH-3T3-ból származó sejtvonal (L-WRN) Wnt3a, R-spondin-3 és Noggin expressziós konstrukciókat tartalmaz, beleértve SV40 DNS-szekvenciákat és kettős antibiotikum-markereket (hph és Tn5-neo), amelyek lehetővé teszik ezeknek a jelátviteli molekuláknak a szekrécióját. A betétek stabilan jelen vannak a NIH-3T3-alapú sejtekben. Ez a besorolás csak Németországban érvényes, más országokban eltérő lehet.

## Biomolekuláris adatok

<b>Protein expression</b>	Wnt-3A, R-spondin, noggin
---------------------------	---------------------------

## A kezelése

<b>Culture Medium</b>	DMEM, w: 4,5 g/L glükóz, w: 4 mM L-Glutamin, w: 3,7 g/L NaHCO <sub>3</sub> , w: 1,0 mM nátrium-piruvát (Cytion cikkszám 820300a)
<b>Supplements</b>	A táptalajt egészítsük ki 10% FBS-szel
<b>Dissociation Reagent</b>	Accutase
<b>Subculturing</b>	Távolítsa el a régi táptalajt a megtapadt sejtekről, és mossa őket kalcium- és magnéziummentes PBS-szel. T25-ös lombikokhoz 3-5 ml PBS-t, T75-ös lombikokhoz pedig 5-10 ml-t használjunk. Ezután fedjük be a sejteket teljesen Accutase-zal, T25 lombikok esetében 1-2 ml-t, T75 lombikok esetében 2,5 ml-t használva. A sejteket 8-10 percre hagyjuk szobahőmérsékleten inkubálni, hogy leváljanak. Az inkubálás után óvatosan keverjük össze a sejteket 10 ml tápfolyadékkal, hogy reszuszpendáljuk őket, majd centrifugáljuk 300xg-nél 3 percre. Dobja el a felülúszót, szuszpendálja újra a sejteket friss tápfolyadékban, és helyezze át őket új lombikokba, amelyek már friss tápfolyadékot tartalmaznak.
<b>Freeze medium</b>	Krioprezerváló táptalajként teljes növekedési táptalajt (beleértve az FBS-t) + 10% DMSO-t használunk a megfelelő kiolvasztás utáni életképesség érdekében, vagy CM-1-et (Cytion katalógusszám: 800100), amely optimalizált ozmoprotektánsokat és metabolikus stabilizátorokat tartalmaz a regenerálódás fokozása és a krioindukált stressz csökkentése érdekében.

## L-WRN sejtek | 300641

**Thawing and  
Culturing Cells**

1. Ellenőrizze, hogy az injekciós üveg a szállításkor mélyhűtött marad-e, mivel a sejteket szárazjégen szállítják, hogy a szállítás során az optimális hőmérsékletet fenntartsák.
2. Átvételt követően vagy azonnal tárolja a krioampullát  $-150\text{ °C}$  alatti hőmérsékleten a sejtek integritásának megőrzése érdekében, vagy folytassa a 3. lépéssel, ha azonnali tenyésztésre van szükség.
3. Azonnali tenyésztés esetén gyorsan fel kell olvasztani az injekciós üveget úgy, hogy tiszta vízzel és antimikrobiális szerrel ellátott  $37\text{ °C}$ -os vízfürdőbe merítjük, és 40-60 másodpercig óvatosan kevergetjük, amíg egy kis jégcsomó nem marad.
4. Az összes további lépést steril körülmények között, áramlásos elszívóban végezzük el, és nyitás előtt fertőtlenítsük a kriofülkét 70%-os etanollal.
5. Óvatosan nyissa fel a fertőtlenített fiolát, és a sejtuszpenziót óvatosan összekeverve helyezze át egy 15 ml-es centrifugacsőbe, amely 8 ml szobahőmérsékletű táptalajt tartalmaz.
6. Centrifugáljuk az elegyet  $300 \times g$ -n 3 percig a sejtek szétválasztásához, és óvatosan dobjuk el a maradék fagyasztóközeget tartalmazó felülúszót.
7. Óvatosan szuszpendáljuk újra a sejt pelletet 10 ml friss táptalajban. Adhezív sejtek esetében ossza a szuszpenziót két T25-ös tenyésztőlombik között; szuszpenziós kultúrák esetében az összes tápfolyadékot tegye át egy T25-ös lombikba a hatékony sejtkölcsönhatás és növekedés elősegítése érdekében.
8. A sejt vonal folyamatos növekedése és fenntartása érdekében tartsa be a megállapított szubkultúra protokollokat, biztosítva a megbízható kísérleti eredményeket.

**Incubation  
Atmosphere**

$37\text{ °C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , párasított légkör.

**Flask Coating**

Nincs

**Freezing  
Procedure**

A kriokonzervált sejt vonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül  $-78\text{ °C}$ -on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

**Shipping  
Conditions**

A kriokonzervált sejt vonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül  $-78\text{ °C}$ -on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

## L-WRN sejtek | 300641

### Storage Conditions

Hosszú távú tartósítás céljából helyezze az üvegeket gőzfázisú folyékony nitrogénbe, körülbelül -150 és -196 °C közötti hőmérsékleten. A -80 °C-on történő tárolás csak rövid átmeneti lépésként fogadható el a folyékony nitrogénbe való átvitel előtt.

## Minőségellenőrzés / Genetikai profil / HLA

### Sterility

A mikoplazma-szennyeződést mind a PCR-alapú vizsgálatokkal, mind a lumineszcencia-alapú mikoplazma-kimutatási módszerekkel kizárják.

A bakteriális, gombás vagy élesztőgombás szennyeződés elkerülése érdekében a sejt kultúrákat napi vizuális ellenőrzésnek vetik alá.