

Cellule L-WRN | 300641**Informazioni generali****Description**

La linea cellulare L-WRN è una linea cellulare di fibroblasti murini derivata dalle cellule L, che sono fibroblasti di topo originariamente isolati dal tessuto connettivo. Le cellule L-WRN sono state ingegnerizzate per esprimere stabilmente Wnt3a, R-spondina 3 e Noggin. Questi fattori sono fondamentali per la crescita e il mantenimento degli organoidi intestinali e delle colture di cellule staminali. La sovraespressione di queste proteine aumenta la proliferazione e la differenziazione delle cellule staminali intestinali, rendendo le cellule L-WRN uno strumento prezioso per lo studio della biologia intestinale e la modellazione delle malattie.

Oltre alla loro applicazione nella coltura di organoidi, le cellule L-WRN sono un modello robusto per studiare le vie di segnalazione Wnt. La segnalazione Wnt è fondamentale per regolare il destino, la proliferazione e la migrazione delle cellule durante lo sviluppo e nei tessuti adulti. Fornendo una fonte costante e controllata di Wnt3a, R-spondina 3 e Noggin, le cellule L-WRN facilitano la ricerca sui meccanismi molecolari alla base di questi processi. I ricercatori possono utilizzare queste cellule per analizzare il ruolo di queste molecole di segnalazione in vari contesti biologici, tra cui il cancro, la rigenerazione dei tessuti e la biologia dello sviluppo.

Nel complesso, la linea cellulare L-WRN è uno strumento potente nella ricerca biomedica grazie alla sua capacità di supportare la crescita di colture tridimensionali complesse e alla sua utilità nello studio delle principali vie di segnalazione. Il suo ruolo nel progresso della ricerca sulle cellule staminali intestinali e i suoi contributi alla comprensione della segnalazione Wnt ne evidenziano l'importanza nel campo della biologia cellulare e molecolare.

Organism

Mouse

Tissue

Tessuto connettivo

Applications

coltura cellulare 3D

Caratteristiche**Breed/Subspecies**

C3H/An

Age

100 giorni

Gender

Uomo

Morphology

Fibroblasti

Growth properties

Aderente

Dati normativi

Cellule L-WRN | 300641

Citation L-WRN (numero di catalogo Cytion 300641)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 10090**CellosaurusAccession** CVCL_DA06

GMO Status GMO-S1: questa linea cellulare murina derivata da NIH-3T3 (L-WRN) contiene costrutti di espressione per Wnt3a, R-spondin-3 e Noggin, comprese sequenze di DNA SV40 e marcatori antibiotici doppi (hph e Tn5-neo), che consentono la secrezione di queste molecole di segnalazione. Gli inserti sono presenti in modo stabile nelle cellule basate su NIH-3T3. Questa classificazione è valida solo in Germania e può differire in altri paesi.

Dati biomolecolari

Protein expression Wnt-3A, R-spondina, noggina

Manipolazione

Culture Medium DMEM, w: 4,5 g/L di glucosio, w: 4 mM di L-Glutammina, w: 3,7 g/L di NaHCO₃, w: 1,0 mM di piruvato di sodio (articolo Cytion numero 820300a)

Supplements Integrare il terreno di coltura con il 10% di FBS

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Rimuovere il vecchio terreno dalle cellule aderenti e lavarle con PBS privo di calcio e magnesio. Per le fiasche T25, utilizzare 3-5 ml di PBS e per le fiasche T75, 5-10 ml. Quindi, coprire completamente le cellule con Accutase, utilizzando 1-2 ml per le fiasche T25 e 2,5 ml per le fiasche T75. Lasciare incubare le cellule a temperatura ambiente per 8-10 minuti per staccarle. Dopo l'incubazione, mescolare delicatamente le cellule con 10 ml di terreno per risospenderle, quindi centrifugare a 300xg per 3 minuti. Scartare il surnatante, risospendere le cellule in terreno fresco e trasferirle in nuove fiasche contenenti terreno fresco.

Freeze medium Come terreno di crioconservazione, utilizziamo un terreno di crescita completo (incluso FBS) + 10% DMSO per un'adeguata vitalità post-scongelo, o CM-1 (numero di catalogo Cytion 800100), che include osmoprotettori e stabilizzatori metabolici ottimizzati per migliorare il recupero e ridurre lo stress crio-indotto.

Cellule L-WRN | 300641

Thawing and Culturing Cells

1. Verificare che la fiala rimanga profondamente congelata al momento della consegna, poiché le cellule vengono spedite con ghiaccio secco per mantenere le temperature ottimali durante il trasporto.
2. Al ricevimento, conservare immediatamente la criovial a temperature inferiori a -150°C per garantire la conservazione dell'integrità cellulare, oppure procedere al punto 3 se è necessaria una coltura immediata.
3. Per la coltura immediata, scongelare rapidamente la fiala immergendola in un bagno d'acqua a 37°C con acqua pulita e un agente antimicrobico, agitando delicatamente per 40-60 secondi finché non rimane un piccolo grumo di ghiaccio.
4. Eseguire tutte le fasi successive in condizioni di sterilità in una cappa a flusso, disinfettando la criovial con etanolo al 70% prima dell'apertura.
5. Aprire con cautela la fiala disinfettata e trasferire la sospensione cellulare in una provetta da centrifuga da 15 ml contenente 8 ml di terreno di coltura a temperatura ambiente, mescolando delicatamente.
6. Centrifugare la miscela a 300 x g per 3 minuti per separare le cellule e scartare con cura il surnatante contenente il terreno di coltura residuo.
7. Risospendere delicatamente il pellet cellulare in 10 ml di terreno di coltura fresco. Per le cellule aderenti, dividere la sospensione tra due fiasche di coltura T25; per le colture in sospensione, trasferire tutto il terreno in una fiasca T25 per promuovere l'interazione e la crescita delle cellule.
8. Attenersi ai protocolli di subcoltura stabiliti per la crescita e il mantenimento continui della linea cellulare, garantendo risultati sperimentali affidabili.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO₂, atmosfera umidificata.

Flask Coating

Nessuno

Freezing Procedure

Le linee cellulari crioconservate vengono spedite su ghiaccio secco in confezioni isolate e convalidate, con una quantità di refrigerante sufficiente a mantenere circa -78 °C durante il trasporto. Al ricevimento, ispezionare immediatamente il contenitore e trasferire immediatamente le fiale in un luogo di conservazione appropriato.

Shipping Conditions

Le linee cellulari crioconservate vengono spedite su ghiaccio secco in confezioni isolate e convalidate, con una quantità di refrigerante sufficiente a mantenere circa -78 °C durante il trasporto. Al ricevimento, ispezionare immediatamente il contenitore e trasferire immediatamente le fiale in un luogo di conservazione appropriato.

Cellule L-WRN | 300641

Storage Conditions

Per la conservazione a lungo termine, porre le fiale in azoto liquido in fase vapore a una temperatura compresa tra -150 e -196 °C circa. La conservazione a -80 °C è accettabile solo come breve fase intermedia prima del trasferimento in azoto liquido.

Controllo qualità e analisi molecolare

Sterility

La contaminazione da micoplasma viene esclusa utilizzando sia saggi basati sulla PCR sia metodi di rilevamento del micoplasma basati sulla luminescenza.

Per garantire l'assenza di contaminazione batterica, fungina o da lieviti, le colture cellulari sono sottoposte a ispezioni visive quotidiane.