

L-WRN ląstelės | 300641

Bendra informacija

Description

L-WRN ląstelių linija - tai pelių fibroblastų ląstelių linija, gauta iš L ląstelių, kurios yra pelių fibroblastai, iš pradžių išskirti iš jungiamojo audinio. L-WRN ląstelės buvo sukurtos taip, kad stabiliai ekspresuotų Wnt3a, R-spondiną 3 ir Nogginą. Šie veiksniai yra labai svarbūs žarnyno organoidų ir kamieninių ląstelių kultūrų augimui ir palaikymui. Šių baltymų perteklinė ekspresija skatina žarnyno kamieninių ląstelių proliferaciją ir diferenciaciją, todėl L-WRN ląstelės yra vertingas įrankis žarnyno biologijai tirti ir ligoms modeliuoti.

L-WRN ląstelės ne tik naudojamos organoidų kultūroje, bet ir yra patikimas modelis Wnt signalų keliams tirti. Wnt signalai yra labai svarbūs reguliuojant ląstelių likimą, proliferaciją ir migraciją vystymosi ir suaugusių audinių metu. L-WRN ląstelės yra pastovus ir kontroliuojamas Wnt3a, R-spondino 3 ir Noggino šaltinis, todėl L-WRN ląstelės palengvina šių procesų molekulinį mechanizmų tyrimus. Mokslininkai gali naudoti šias ląsteles, kad ištirtų šių signalinių molekulių vaidmenį įvairiose biologinėse srityse, įskaitant vėžį, audinių regeneraciją ir vystymosi biologiją.

Apskritai L-WRN ląstelių linija yra galinga biomedicininis tyrimų priemonė dėl jos gebėjimo auginti sudėtingas trimates kultūras ir naudingumo tiriant pagrindinius signalinius kelius. Jos vaidmuo plėtojant žarnyno kamieninių ląstelių tyrimus ir jos indėlis į Wnt signalizacijos supratimą pabrėžia jos svarbą ląstelių ir molekulinės biologijos srityje.

Organism	Pelė
Tissue	Jungiamasis audinys
Applications	3D ląstelių kultūra

Charakteristikos

Breed/Subspecies	C3H/An
Age	100 dienų
Gender	Vyras
Morphology	Fibroblastai
Growth properties	Priglundęs

Reguliavimo duomenys

Citation	L-WRN (Cytion katalogo numeris 300641)
-----------------	--

L-WRN ląstelės | 300641

Biosafety level 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_DA06**GMO Status** GMO-S1: Ši pelėms NIH-3T3 kilusi ląstelių linija (L-WRN) turi Wnt3a, R-spondin-3 ir Noggin ekspresijos konstruktus, įskaitant SV40 DNR sekas ir dvigubus antibiotikų žymeklius (hph ir Tn5-neo), leidžiančius šių signalinių molekulių sekreciją. Įterptos dalys yra stabiliai esančios NIH-3T3 pagrinduose ląstelėse. Ši klasifikacija taikoma tik Vokietijoje ir kitose šalyse gali skirtis.**Biomolekuliniai duomenys****Protein expression** Wnt-3A, R-spondinas, nogginas**Tvarkymas****Culture Medium** DMEM, š: 4,5 g/l gliukozės, š: 4 mM L-glutamino, š: 3,7 g/l NaHCO₃, š: 1,0 mM natrio piruvato (Cytion gaminio numeris 820300a)**Supplements** Papildykite terpę 10 % FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Pašalinkite seną terpę nuo prilipusių ląstelių ir nuplaukite jas PBS, kuriame nėra kalcio ir magnio. T25 kolboms naudokite 3-5 ml PBS, o T75 kolboms - 5-10 ml. Tuomet visiškai užpilkite ląsteles "Accutase", naudodami 1-2 ml T25 kolboms ir 2,5 ml T75 kolboms. Leiskite ląstelėms inkubuotis kambario temperatūroje 8-10 minučių, kad jos atsiskirtų. Po inkubacijos atsargiai sumaišykite ląsteles su 10 ml terpės, kad jos vėl suspenduotų, tada 3 minutes centrifuguokite 300xg greičiu. Išmeskite supernatantą, vėl sutirpinkite ląsteles šviežioje terpėje ir perkeltite jas į naujas kolbas, kuriose jau yra šviežia terpė.**Freeze medium** Kaip kriokonservavimo terpę naudojame visišką augimo terpę (įskaitant FBS) + 10 % DMSO, kad būtų užtikrintas tinkamas gyvybingumas po atšildymo, arba CM-1 (Cytion katalogo numeris 800100), kurioje yra optimizuotų osmoprotektorių ir medžiagų apykaitos stabilizatorių, kad būtų pagerintas atsigavimas ir sumažintas kriokonservavimo sukeltas stresas.

L-WRN ląstelės | 300641

Thawing and Culturing Cells

1. Patikrinkite, ar pristatant buteliuką jis išlieka gerai užšaldytas, nes ląstelės gabenamos ant sauso ledo, kad gabenimo metu būtų palaikoma optimali temperatūra.
2. Gavę iš karto laikykite kriovialą žemesnėje nei -150°C temperatūroje, kad užtikrintumėte ląstelių vientisumo išsaugojimą, arba pereikite prie 3 veiksmo, jei reikia nedelsiant kultivuoti.
3. Jei norite nedelsiant pradėti kultivuoti, greitai atšildykite buteliuką panardindami jį į 37°C temperatūros vandens vonelę su švariu vandeniu ir antimikrobine priemone, švelniai maišydami 40-60 sekundžių, kol liks nedidelis ledo gabalėlis.
4. Visus tolesnius veiksmus atlikite steriliomis sąlygomis srauto gaubte, prieš atidarydami kriovialą dezinfekuokite jį 70 % etanoliu.
5. Atsargiai atidarykite dezinfekuotą buteliuką ir perpilkite ląstelių suspensiją į 15 ml centrifugos mėgintuvėlį, kuriame yra 8 ml kambario temperatūros mitybinės terpės, atsargiai išmaišykite.
6. Mišinį centrifuguokite 300 x g greičiu 3 minutes, kad atsiskirtų ląstelės, ir atsargiai išmeskite supernatantą su šaldymo terpės likučiais.
7. Švelniai resuspenduokite ląstelių granules 10 ml šviežios mitybinės terpės. Jei ląstelės yra prigludusios, suspensiją padalykite į dvi T25 kolbas; jei tai suspensinės kultūros, visą terpę perkelti į vieną T25 kolbą, kad paskatintumėte veiksmingą ląstelių sąveiką ir augimą.
8. Laikykitės nustatytų subkultūrų protokolų, kad ląstelių linija nuolat augtų ir būtų palaikoma, taip užtikrinant patikimus eksperimentų rezultatus.

Incubation Atmosphere

37°C , 5 % CO_2 , drėkintoje atmosferoje.

Flask Coating

Nėra

Freezing Procedure

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug -78°C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelti mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

Shipping Conditions

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug -78°C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelti mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

L-WRN ląstelės | 300641

Storage Conditions

Norėdami ilgai saugoti, įdėkite buteliukus į garų fazės skystą azotą maždaug -150-196 °C temperatūroje. Laikymas -80 °C temperatūroje yra priimtinas tik kaip trumpas tarpinis etapas prieš perkeliant į skystą azotą.

Kokybės kontrolė / Genetinis profilis / HLA

Sterility

Mikoplazmos užterštumas atmetamas taikant PGR pagrįstus tyrimus ir liuminescencinius mikoplazmos aptikimo metodus.

Siekiant užtikrinti, kad nebūtų užteršimo bakterijomis, grybeliais ar mielėmis, ląstelių kultūros kasdien vizualiai tikrinamos.