

L-WRN šūnas | 300641

Vispārīga informācija

Description

L-WRN šūnu līnija ir peļu fibroblastu šūnu līnija, kas iegūta no L šūnām, kas ir peļu fibroblasti, kas sākotnēji izolēti no saistaudiem. L-WRN šūnas ir konstruētas tā, lai tās stabili ekspresētu Wnt3a, R-spondīnu 3 un Nogginu. Šie faktori ir ļoti svarīgi zarnu organoīdu un cilmes šūnu kultūru augšanai un uzturēšanai. Šo proteīnu pārmērīga ekspresija pastiprina zarnu cilmes šūnu proliferāciju un diferenciaciju, padarot L-WRN šūnas par vērtīgu līdzekli zarnu bioloģijas un slimību modelēšanas pētījumiem.

Papildus to izmantošanai organoīdu kultūrā L-WRN šūnas kalpo kā spēcīgs modelis Wnt signālu ceļu izpētei. Wnt signāliem ir izšķiroša nozīme šūnu likteņa, proliferācijas un migrācijas regulēšanā attīstības laikā un pieaugušo audos. Nodrošinot pastāvīgu un kontrolētu Wnt3a, R-spondīna 3 un Noggina avotu, L-WRN šūnas atvieglo šo procesu pamatā esošo molekulāro mehānismu izpēti. Pētnieki var izmantot šīs šūnas, lai pētītu šo signālmoduļu lomu dažādos bioloģiskos kontekstos, tostarp vēža, audu reģenerācijas un attīstības bioloģijā.

Kopumā L-WRN šūnu līnija ir spēcīgs instruments biomedicīniskajos pētījumos, pateicoties tās spējai nodrošināt sarežģītu trīsdimensiju kultūru augšanu un lietderībai galveno signalizācijas ceļu izpētē. Tās loma zarnu cilmes šūnu pētniecības attīstībā un tās ieguldījums Wnt signalizācijas izpratnē uzsver tās nozīmi šūnu un molekulārās bioloģijas jomā.

Organism Pele

Tissue Saistaudi

Applications 3D šūnu kultūras

Raksturojums

Breed/Subspecies C3H/An

Age 100 dienas

Gender Vīrieši

Morphology Fibroblasti

Growth properties Adherent

Normatīvie dati

Citation L-WRN (Cytion kataloga numurs 300641)

L-WRN šūnas | 300641

Biosafety level 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_DA06**GMO Status** GMO-S1: Šī no pelēm NIH-3T3 iegūtā šūnu līnija (L-WRN) satur Wnt3a, R-spondin-3 un Noggin ekspresijas konstruktus, tostarp SV40 DNS sekvences un divkāršus antibiotiku marķierus (hph un Tn5-neo), kas ļauj sekrēt šīs signālmolekulas. Ievietojumi ir stabili klāt NIH-3T3 bāzes šūnās. Šī klasifikācija attiecas tikai uz Vāciju un citās valstīs var atšķirties.**Biomolekulārie dati****Protein expression** Wnt-3A, R-spondīns, noggins**Darbs ar****Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/l glikozes, w: 4 mM L-glutamīna, w: 3,7 g/l NaHCO₃, w: 1,0 mM nātrija piruvāta (Cytion izstrādājuma numurs 820300a)**Supplements** Papildināt barotni ar 10% FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Noņem veco barotni no pielipušajām šūnām un mazgāt tās ar PBS, kurā nav kalcija un magnija. T25 kolbām izmantojiet 3-5 ml PBS, bet T75 kolbām - 5-10 ml. Pēc tam pilnībā pārklājiet šūnas ar Accutase, izmantojot 1-2 ml T25 kolbām un 2,5 ml T75 kolbām. Ļaujiet šūnām inkubēties istabas temperatūrā 8-10 minūtes, lai tās atdalītos. Pēc inkubācijas uzmanīgi samaisiet šūnas ar 10 ml barotnes, lai tās atkārtoti suspendētu, pēc tam centrifugējiet 3 minūtes ar 300xg. Izmetiet supernatantu, atkārtoti suspendējiet šūnas svaigā barotnē un pārvietojiet tās jaunās kolbās, kurās jau ir svaiga barotne.**Freeze medium** Kā kriokonservēšanas barotni mēs izmantojam pilnvērtīgu augšanas barotni (ieskaitot FBS) + 10 % DMSO, lai nodrošinātu pietiekamu dzīvotspēju pēc atkausēšanas, vai CM-1 (Cytion kataloga numurs 800100), kas ietver optimizētus osmoprotektorus un metaboliskos stabilizatorus, lai uzlabotu atveseļošanos un samazinātu krioinducēto stresu.

L-WRN šūnas | 300641

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Pārliecinieties, ka pēc piegādes flakons paliek dziļi sasaldēts, jo šūnas tiek sūtītas uz sausā ledus, lai pārvadāšanas laikā saglabātu optimālu temperatūru.
2. Pēc saņemšanas vai nu nekavējoties uzglabāt kriovialu temperatūrā, kas zemāka par -150 °C, lai nodrošinātu šūnu integritātes saglabāšanu, vai arī turpināt 3. posmu, ja nepieciešama tūlītēja kultivēšana.
3. Tūlītējas kultivēšanas gadījumā ātri atkausējiet flakonu, iegremdējot to 37°C ūdens vannā ar tīru ūdeni un antibakteriālu līdzekli, viegli maisot 40-60 sekundes, līdz paliek neliels ledus gabaliņš.
4. Visas turpmākās darbības veiciet sterilos apstākļos plūsmas nosūcējā, pirms atvēršanas dezinficējot kriovialu ar 70% etanolu.
5. Uzmanīgi atveriet dezinficēto flakonu un pārnesiet šūnu suspensiju 15 ml centrifūgas mēģenē, kurā ir 8 ml istabas temperatūras barotnes, uzmanīgi samaisot.
6. Centrifugējiet maisījumu ar 300 x g 3 minūtes, lai atdalītu šūnas, un uzmanīgi izmetiet virskārtu, kas satur saldēšanas barotnes atlikumus.
7. Viegli resuspendēt šūnu granulas 10 ml svaigas barotnes. Adhēzijas šūnu gadījumā suspensiju sadalīt divās T25 kolbās; suspensijas kultūrām visu barotni pārnest vienā T25 kolbā, lai veicinātu efektīvu šūnu mijiedarbību un augšanu.
8. Ievērojiet noteiktos subkultūru protokolus, lai nodrošinātu nepārtrauktu šūnu līnijas augšanu un uzturēšanu, tādējādi nodrošinot uzticamus eksperimentu rezultātus.

**Incubation
Atmosphere**37°C, 5% CO_2 , mitrināta atmosfēra.**Flask Coating**

Neviens

**Freezing
Procedure**

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidruma daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

L-WRN šūnas | 300641

Shipping Conditions

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidrums daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

Storage Conditions

Ilgstošai uzglabāšanai flakonus ievietojiet šķidrā slāpekļī ar tvaika fāzi aptuveni -150 līdz -196 °C temperatūrā. Uzglabāšana -80 °C temperatūrā ir pieļaujama tikai kā īss starposms pirms pārvietošanas uz šķidro slāpekli.

Kvalitātes kontrole / Ģenētiskais profils / HLA

Sterility

Mikoplazmas piesārņojums tiek izslēgts, izmantojot gan uz PCR balstītus testus, gan uz luminiscenci balstītas mikoplazmas noteikšanas metodes.

Lai pārlicinātos, ka nav baktēriju, sēnīšu vai rauga piesārņojuma, šūnu kultūras katru dienu vizuāli pārbauda.