

L-WRN Cellen | 300641

Algemene informatie

Description

De L-WRN cellijn is een muriene fibroblast cellijn afgeleid van de L-cellen, die oorspronkelijk geïsoleerd zijn uit bindweefsel. L-WRN cellen zijn ontwikkeld om stabiel Wnt3a, R-spondine 3 en Noggin tot expressie te brengen. Deze factoren zijn cruciaal voor de groei en het onderhoud van darmorganoïden en stamcelculturen. De overexpressie van deze eiwitten verbetert de proliferatie en differentiatie van darmstamcellen, waardoor L-WRN cellen een waardevol hulpmiddel zijn voor het bestuderen van darmbiologie en het modelleren van ziekten.

Naast hun toepassing in organoïde kweek, dienen L-WRN cellen als een robuust model voor het onderzoeken van Wnt signaalroutes. Wnt-signalering is cruciaal bij het reguleren van het lot, de proliferatie en migratie van cellen tijdens de ontwikkeling en in volwassen weefsels. Door een consistente en gecontroleerde bron van Wnt3a, R-spondine 3 en Noggin te bieden, vergemakkelijken L-WRN cellen het onderzoek naar de moleculaire mechanismen die aan deze processen ten grondslag liggen. Onderzoekers kunnen deze cellen gebruiken om de rol van deze signaalmoleculen in verschillende biologische contexten te ontleden, waaronder kanker, weefselregeneratie en ontwikkelingsbiologie.

In het algemeen is de L-WRN cellijn een krachtig hulpmiddel in biomedisch onderzoek vanwege zijn vermogen om de groei van complexe driedimensionale culturen te ondersteunen en zijn nut bij het bestuderen van belangrijke signaalroutes. Haar rol in de vooruitgang van darmstamcelonderzoek en haar bijdragen aan ons begrip van Wnt-signalering benadrukken haar belang op het gebied van cellulaire en moleculaire biologie.

Organism	Muis
Tissue	Bindweefsel
Applications	3D-celcultuur

Kenmerken

Breed/Subspecies	C3H/An
Age	100 dagen
Gender	Mannelijk
Morphology	Fibroblast
Growth properties	Aanhangend

Regelgevende gegevens

Citation	L-WRN (Cytion catalogusnummer 300641)
-----------------	---------------------------------------

L-WRN Cellen | 300641

Biosafety level 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_DA06**GMO Status** GMO-S1: Deze van muizen afkomstige NIH-3T3-cel lijn (L-WRN) bevat expressieconstructen voor Wnt3a, R-spondin-3 en Noggin, inclusief SV40-DNA-sequenties en dubbele antibiotica-markers (hph en Tn5-neo), waardoor secretie van deze signaalmoleculen mogelijk is. De inserts zijn stabiel aanwezig in NIH-3T3-gebaseerde cellen. Deze classificatie geldt alleen binnen Duitsland en kan elders afwijken.**Biomoleculaire gegevens****Protein expression** Wnt-3A, R-spondine, noggin**Omgaan met****Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/L Glucose, w: 4 mM L-Glutamine, w: 3,7 g/L NaHCO₃, w: 1,0 mM Natriumpyruvaat (Cytion artikelnummer 820300a)**Supplements** Vul het medium aan met 10% FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Verwijder het oude medium van de adherente cellen en was ze met PBS zonder calcium en magnesium. Gebruik voor T25-flesjes 3-5 ml PBS en voor T75-flesjes 5-10 ml. Bedek de cellen vervolgens volledig met Accutase, met 1-2 ml voor T25-flesjes en 2,5 ml voor T75-flesjes. Laat de cellen gedurende 8-10 minuten bij kamertemperatuur incuberen om ze los te maken. Na incubatie de cellen voorzichtig mengen met 10 ml medium om ze te resuspenden en vervolgens centrifugerend bij 300xg gedurende 3 minuten. Gooi het supernatant weg, resuspendeer de cellen in vers medium en breng ze over in nieuwe kolven die al vers medium bevatten.**Freeze medium** Als cryoconserveringsmedium gebruiken we volledig groeimedum (inclusief FBS) + 10% DMSO voor voldoende levensvatbaarheid na het ontdooien, of CM-1 (Cytion catalogusnummer 800100), dat geoptimaliseerde osmoprotectanten en metabolische stabilisatoren bevat om het herstel te verbeteren en door cryo geïnduceerde stress te verminderen.

L-WRN Cellen | 300641

Thawing and Culturing Cells

1. Controleer of de flacon bij levering diepgevroren blijft, aangezien de cellen op droog ijs worden verzonden om optimale temperaturen tijdens het transport te behouden.
2. Bewaar het cryoflesje na ontvangst onmiddellijk bij temperaturen lager dan $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ om de integriteit van de cellen te behouden, of ga verder met stap 3 als onmiddellijke kweek vereist is.
3. Voor onmiddellijke kweek: ontdooi de flacon snel door deze onder te dompelen in een waterbad van $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ met schoon water en een antimicrobieel middel, waarbij u 40-60 seconden zachtjes schudt totdat er een klein ijsklontje overblijft.
4. Voer alle volgende stappen uit onder steriele omstandigheden in een stromingskap en desinfecteer de cryoflacon met 70% ethanol voordat deze wordt geopend.
5. Open voorzichtig de gedesinfecteerde flacon en breng de celsuspensie over in een centrifugebuis van 15 ml met 8 ml kweekmedium op kamertemperatuur en meng voorzichtig.
6. Centrifugeer het mengsel gedurende 3 minuten bij $300 \times g$ om de cellen te scheiden en gooi het supernatant met resterend vriesmedium voorzichtig weg.
7. Resuspendeer de celpellet voorzichtig in 10 ml vers kweekmedium. Verdeel voor adherente cellen de suspensie over twee T25-kweekkolven; breng voor suspensiekweken al het medium over in één T25-kweekkolf om effectieve celinteractie en -groei te bevorderen.
8. Houd u aan de vastgestelde subcultuurprotocollen voor continue groei en onderhoud van de cellijn, om betrouwbare experimentele resultaten te garanderen.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , bevochtigde atmosfeer.

Flask Coating

Geen

Freezing Procedure

Gecryopreserveerde cellijnen worden verzonden op droog ijs in gevalideerde, geïsoleerde verpakkingen met voldoende koelmiddel om gedurende het transport ongeveer $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ te handhaven. Inspecteer de verpakking onmiddellijk na ontvangst en breng de flacons onverwijld over naar de juiste opslagplaats.

Shipping Conditions

Gecryopreserveerde cellijnen worden verzonden op droog ijs in gevalideerde, geïsoleerde verpakkingen met voldoende koelmiddel om gedurende het transport ongeveer $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ te handhaven. Inspecteer de verpakking onmiddellijk na ontvangst en breng de flacons onverwijld over naar de juiste opslagplaats.

L-WRN Cellen | 300641

**Storage
Conditions**

Voor langdurige bewaring plaatst u flesjes in vloeibare stikstof in dampfase bij ongeveer -150 tot -196 °C. Opslag bij -80 °C is alleen aanvaardbaar als korte tussenstap vóór overbrenging naar vloeibare stikstof.

Kwaliteitscontrole / Genetisch profiel / HLA

Sterility

Mycoplasma-verontreiniging wordt uitgesloten met zowel PCR-gebaseerde testen als op luminescentie gebaseerde mycoplasma-detectiemethoden.

Om er zeker van te zijn dat er geen besmetting is met bacteriën, schimmels of gisten, worden de celculturen dagelijks onderworpen aan visuele inspecties.