

L-WRN-celler | 300641

Generell informasjon

Description

L-WRN-cellelinjen er en murin fibroblastcellelinje som er avledet fra L-celler, som er musefibroblaster som opprinnelig ble isolert fra bindevev. L-WRN-cellene er konstruert slik at de uttrykker Wnt3a, R-spondin 3 og Noggin på en stabil måte. Disse faktorene er avgjørende for vekst og vedlikehold av tarmorganoider og stamcellekulturer. Overuttrykk av disse proteinene øker proliferasjonen og differensieringen av tarmstamceller, noe som gjør L-WRN-celler til et verdifullt verktøy for studier av tarmbiologi og sykdomsmodellering.

I tillegg til at L-WRN-celler kan brukes i organoidkulturer, er de en robust modell for å undersøke Wnt-signalveier. Wnt-signalering er avgjørende for å regulere celleskjebne, proliferasjon og migrasjon under utvikling og i voksent vev. Ved å være en konsistent og kontrollert kilde til Wnt3a, R-spondin 3 og Noggin, gjør L-WRN-celler det lettere å forske på de molekylære mekanismene som ligger til grunn for disse prosessene. Forskere kan bruke disse cellene til å dissekere rollene til disse signalmolekylene i ulike biologiske sammenhenger, blant annet kreft, vevsregenerering og utviklingsbiologi.

L-WRN-cellelinjen er et kraftfullt verktøy i biomedisinsk forskning på grunn av dens evne til å støtte vekst av komplekse tredimensjonale kulturer og dens anvendelighet i studier av viktige signalveier. L-WRN-cellelinjens rolle i utviklingen av tarmstamcelleforskning og dens bidrag til vår forståelse av Wnt-signalering understreker dens betydning innen celle- og molekylærbiologi.

Organism Mus

Tissue Bindevev

Applications 3D-cellekultur

Kjennetegn

Breed/Subspecies C3H/An

Age 100 dager

Gender Mann

Morphology Fibroblast

Growth properties Vedhengende

Regulatoriske data

Citation L-WRN (Cytion-katalognummer 300641)

L-WRN-celler | 300641

Biosafety level 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_DA06**GMO Status** GMO-S1: Denne murine NIH-3T3-avlede celledinjen (L-WRN) inneholder ekspresjonskonstruksjoner for Wnt3a, R-spondin-3 og Noggin, inkludert SV40-DNA-sekvenser og doble antibiotikamarkører (hph og Tn5-neo), som muliggjør sekresjon av disse signalmolekylene. Innsatsene er stabilt til stede i NIH-3T3-baserte celler. Denne klassifiseringen gjelder kun i Tyskland og kan variere andre steder.**Biomolekylære data****Protein expression** Wnt-3A, R-spondin, noggin**Håndtering****Culture Medium** DMEM, m: 4,5 g/L glukose, m: 4 mM L-glutamin, m: 3,7 g/L NaHCO₃, m: 1,0 mM natriumpyruvat (Cytion artikkelnummer 820300a)**Supplements** Suppler mediet med 10 % FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Fjern det gamle mediet fra de adherente cellene, og vask dem med PBS uten kalsium og magnesium. Bruk 3-5 ml PBS for T25-kolber og 5-10 ml for T75-kolber. Dekk deretter cellene helt med Accutase, med 1-2 ml for T25-kolber og 2,5 ml for T75-kolber. La cellene inkubere i romtemperatur i 8-10 minutter for å løsne dem. Etter inkubasjon blandes cellene forsiktig med 10 ml medium for å resuspendere dem, og sentrifuger deretter ved 300xg i 3 minutter. Kast supernatanten, resuspendere cellene i nytt medium, og overfør dem til nye kolber som allerede inneholder nytt medium.**Freeze medium** Som kryopreserveringsmedium bruker vi komplett vekstmedium (inkludert FBS) + 10 % DMSO for tilstrekkelig levedyktighet etter opptining, eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som inneholder optimaliserte osmoprotective midler og metabolske stabilisatorer for å øke utvinningen og redusere kryoinduert stress.

L-WRN-celler | 300641

Thawing and Culturing Cells

1. Kontroller at hetteglasset er dypfrysst ved levering, ettersom cellene sendes på tørris for å opprettholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved mottak skal hetteglasset enten oppbevares umiddelbart ved temperaturer under $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ for å sikre at cellenes integritet bevares, eller gå videre til trinn 3 hvis umiddelbar dyrking er nødvendig.
3. Ved umiddelbar dyrking tiner du hetteglasset raskt ved å senke det ned i et $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ varmt vannbad med rent vann og et antimikrobielt middel, og røre forsiktig i 40-60 sekunder til det blir en liten isklump igjen.
4. Utfør alle påfølgende trinn under sterile forhold i en strømningshette, og desinfiser kryoflasken med 70 % etanol før du åpner den.
5. Åpne det desinfiserte hetteglasset forsiktig, og overfør cellesuspensjonen til et 15 ml sentrifugerør som inneholder 8 ml romtemperert dyrkingsmedium, og bland forsiktig.
6. Sentrifuger blandingen ved $300 \times g$ i 3 minutter for å separere cellene, og kast supernatanten som inneholder rester av frysemedium, forsiktig.
7. Resuspender cellepelletten forsiktig i 10 ml nytt dyrkingsmedium. For adherente celler, del suspensjonen mellom to T25-kulturkolber; for suspensjonskulturer, overfør alt mediet til én T25-kolbe for å fremme effektiv celleinteraksjon og vekst.
8. Følg etablerte subkulturprotokoller for fortsatt vekst og vedlikehold av cellelinjen, noe som sikrer pålitelige eksperimentelle resultater.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5 % CO_2 , befuktet atmosfære.

Flask Coating

Ingen

Freezing Procedure

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca. $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

Shipping Conditions

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca. $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

L-WRN-celler | 300641

**Storage
Conditions**

For langtidsoppbevaring plasseres hetteglassene i flytende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Lagring ved -80 °C er kun akseptabelt som et kort mellomtrinn før overføring til flytende nitrogen.

Kvalitetskontroll / Genetisk profil / HLA

Sterility

Mykoplasma-kontaminering utelukkes ved hjelp av både PCR-baserte analyser og luminescensbaserte metoder for påvisning av mykoplasma.

For å sikre at det ikke finnes bakterie-, sopp- eller gjærkontaminering, blir cellekulturene inspisert visuelt hver dag.