

Komórki L-WRN | 300641**Informacje ogólne****Description**

Linia komórkowa L-WRN to mysia linia komórkowa fibroblastów pochodząca z komórek L, które są mysimi fibroblastami pierwotnie wyizolowanymi z tkanki łącznej. Komórki L-WRN zostały zmodyfikowane w celu stabilnej ekspresji Wnt3a, R-spondyny 3 i Noggin. Czynniki te mają kluczowe znaczenie dla wzrostu i utrzymania organoidów jelitowych i kultur komórek macierzystych. Nadekspresja tych białek zwiększa proliferację i różnicowanie jelitowych komórek macierzystych, czyniąc komórki L-WRN cennym narzędziem do badania biologii jelit i modelowania chorób.

Oprócz ich zastosowania w hodowli organoidów, komórki L-WRN służą jako solidny model do badania szlaków sygnałowych Wnt. Sygnalizacja Wnt jest kluczowa w regulacji losu komórek, proliferacji i migracji podczas rozwoju i w dorosłych tkankach. Zapewniając spójne i kontrolowane źródło Wnt3a, R-spondyny 3 i Noggin, komórki L-WRN ułatwiają badania nad mechanizmami molekularnymi leżącymi u podstaw tych procesów. Naukowcy mogą wykorzystać te komórki do zbadania roli tych cząsteczek sygnałowych w różnych kontekstach biologicznych, w tym w nowotworach, regeneracji tkanek i biologii rozwojowej.

Ogólnie rzecz biorąc, linia komórkowa L-WRN jest potężnym narzędziem w badaniach biomedycznych ze względu na jej zdolność do wspierania wzrostu złożonych trójwymiarowych kultur i jej użyteczność w badaniu kluczowych szlaków sygnałowych. Jej rola w rozwoju badań nad jelitowymi komórkami macierzystymi i jej wkład w nasze zrozumienie sygnalizacji Wnt podkreślają jej znaczenie w dziedzinie biologii komórkowej i molekularnej.

Organism Mysz**Tissue** Tkanka łączna**Applications** hodowla komórek 3D**Charakterystyka****Breed/Subspecies** C3H/An**Age** 100 dni**Gender** Męczyzna**Morphology** Fibroblast**Growth properties** Adherent**Dane regulacyjne**

Komórki L-WRN | 300641

Citation	L-WRN (numer katalogowy Cytion 300641)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_DA06
GMO Status	GMO-S1: Ta mysia linia komórkowa pochodząca z NIH-3T3 (L-WRN) zawiera konstrukty ekspresyjne dla Wnt3a, R-spondin-3 i Noggin, w tym sekwencje DNA SV40 i podwójne markery antybiotykowe (hph i Tn5-neo), umożliwiające wydzielanie tych cząsteczek sygnałowych. Wstawki są stabilnie obecne w komórkach opartych na NIH-3T3. Klasyfikacja ta obowiązuje wyłącznie na terenie Niemiec i może się różnić w innych krajach.

Dane biomolekularne

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

Obsługa

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/l glukozy, w: 4 mM L-glutaminy, w: 3,7 g/l NaHCO ₃ , w: 1,0 mM pirogronianu sodu (numer artykułu Cytion 820300a)
Supplements	Uzupełnić podłoże 10% FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Usuń starą pożywkę z przylegających komórek i przemyj je PBS, który nie zawiera wapnia i magnezu. W przypadku kolb T25 należy użyć 3-5 ml PBS, a w przypadku kolb T75 5-10 ml. Następnie całkowicie pokryj komórki Accutase, używając 1-2 ml dla kolb T25 i 2,5 ml dla kolb T75. Pozwól komórkom inkubować w temperaturze pokojowej przez 8-10 minut, aby je oddzielić. Po inkubacji delikatnie wymieszaj komórki z 10 ml pożywki, aby ponownie je zawiesić, a następnie odwiruj przy 300xg przez 3 minuty. Odrzucić supernatant, ponownie zawiesić komórki w świeżej pożywce i przenieść je do nowych kolb zawierających już świeżą pożywkę.
Freeze medium	Jako pożywki do kriokonserwacji używamy kompletnej pożywki wzrostowej (w tym FBS) + 10% DMSO w celu zapewnienia odpowiedniej żywotności po rozmrożeniu lub CM-1 (numer katalogowy Cytion 800100), która zawiera zoptymalizowane osmoprotektanty i stabilizatory metaboliczne w celu zwiększenia regeneracji i zmniejszenia stresu wywołanego kriokonserwacją.

Komórki L-WRN | 300641

Thawing and Culturing Cells

1. Upewnij się, że fiolka pozostaje głęboko zamrożona w momencie dostawy, ponieważ komórki są wysyłane w suchym lodzie, aby utrzymać optymalną temperaturę podczas transportu.
2. Po otrzymaniu należy natychmiast przechowywać fiolkę w temperaturze poniżej -150°C , aby zapewnić zachowanie integralności komórek, lub przejść do kroku 3, jeśli wymagana jest natychmiastowa hodowla.
3. W przypadku natychmiastowej hodowli należy szybko rozmrozić fiolkę, zanurzając ją w łaźni wodnej o temperaturze 37°C z czystą wodą i środkiem przeciwdrobnoustrojowym, delikatnie mieszając przez 40-60 sekund, aż pozostanie niewielka grudka lodu.
4. Wykonaj wszystkie kolejne kroki w sterylnych warunkach w kapturze przepływowej, dezynfekując fiolkę 70% etanolem przed otwarciem.
5. Ostrożnie otworzyć zdezynfekowaną fiolkę i przenieść zawiesinę komórek do 15 ml probówki wirówkowej zawierającej 8 ml podłoża hodowlanego o temperaturze pokojowej, delikatnie mieszając.
6. Wirować mieszaninę z prędkością $300 \times g$ przez 3 minuty w celu oddzielenia komórek i ostrożnie odrzucić supernatant zawierający pozostałości pożywki do zamrażania.
7. Delikatnie ponownie zawiesić osad komórek w 10 ml świeżego podłoża hodowlanego. W przypadku komórek przylegających, rozdzielić zawiesinę pomiędzy dwie kolby hodowlane T25; w przypadku hodowli zawieszonych, przenieść całą pożywkę do jednej kolby T25 w celu promowania skutecznej interakcji i wzrostu komórek.
8. Przestrzegaj ustalonych protokołów podhodowli w celu ciągłego wzrostu i utrzymania linii komórkowej, zapewniając wiarygodne wyniki eksperymentów.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , nawilżona atmosfera.

Flask Coating

Brak

Freezing Procedure

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Komórki L-WRN | 300641

Shipping Conditions

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiołki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Storage Conditions

W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiołki w ciekłym azocie w fazie lotnej w temperaturze od -150 do -196°C . Przechowywanie w temperaturze -80°C jest dopuszczalne tylko jako krótki etap przejściowy przed przeniesieniem do ciekłego azotu.

Kontrola jakości / Profil genetyczny / HLA

Sterility

Zanieczyszczenie mykoplazmą jest wykluczane przy użyciu zarówno testów opartych na PCR, jak i metod wykrywania mykoplazmy opartych na luminescencji.

Aby upewnić się, że nie ma zanieczyszczenia bakteriami, grzybami lub drożdżami, hodowle komórkowe są poddawane codziennym kontrolom wizualnym.