

**Células L-WRN | 300641****Informações gerais****Description**

A linha celular L-WRN é uma linha celular de fibroblastos murinos derivada das células L, que são fibroblastos de ratinho originalmente isolados do tecido conjuntivo. As células L-WRN foram concebidas para exprimir de forma estável Wnt3a, R-espondina 3 e Noggin. Estes factores são críticos para o crescimento e manutenção de organóides intestinais e culturas de células estaminais. A sobreexpressão destas proteínas aumenta a proliferação e a diferenciação das células estaminais intestinais, tornando as células L-WRN uma ferramenta valiosa para o estudo da biologia intestinal e da modelação de doenças.

Para além da sua aplicação na cultura de organóides, as células L-WRN constituem um modelo robusto para a investigação das vias de sinalização Wnt. A sinalização Wnt é fundamental na regulação do destino, proliferação e migração das células durante o desenvolvimento e nos tecidos adultos. Ao fornecer uma fonte consistente e controlada de Wnt3a, R-espondina 3 e Noggin, as células L-WRN facilitam a investigação dos mecanismos moleculares subjacentes a estes processos. Os investigadores podem utilizar estas células para dissecar os papéis destas moléculas de sinalização em vários contextos biológicos, incluindo o cancro, a regeneração de tecidos e a biologia do desenvolvimento.

De um modo geral, a linha celular L-WRN é uma ferramenta poderosa na investigação biomédica devido à sua capacidade de suportar o crescimento de culturas tridimensionais complexas e à sua utilidade no estudo das principais vias de sinalização. O seu papel no avanço da investigação sobre células estaminais intestinais e os seus contributos para a nossa compreensão da sinalização Wnt realçam a sua importância no domínio da biologia celular e molecular.

**Organism** Rato**Tissue** Tecido conjuntivo**Applications** cultura de células 3D**Caraterísticas****Breed/Subspecies** C3H/An**Age** 100 dias**Gender** Masculino**Morphology** Fibroblastos**Growth properties** Aderente**Dados regulamentares**

**Células L-WRN | 300641**

<b>Citation</b>	L-WRN (número de catálogo Cytion 300641)
<b>Biosafety level</b>	1
<b>NCBI_TaxID</b>	9606
<b>CellosaurusAccession</b>	CVCL_DA06
<b>GMO Status</b>	GMO-S1: Esta linha celular murina derivada de NIH-3T3 (L-WRN) contém construções de expressão para Wnt3a, R-spondin-3 e Noggin, incluindo sequências de ADN SV40 e marcadores antibióticos duplos (hph e Tn5-neo), permitindo a secreção destas moléculas de sinalização. As inserções estão presentes de forma estável nas células baseadas em NIH-3T3. Esta classificação aplica-se apenas na Alemanha e pode ser diferente noutros países.

**Dados biomoleculares**

<b>Protein expression</b>	Wnt-3A, R-espondina, noggin
---------------------------	-----------------------------

**Manuseamento**

<b>Culture Medium</b>	DMEM, com: 4,5 g/L de glucose, com: 4 mM de L-Glutamina, com: 3,7 g/L de NaHCO <sub>3</sub> , com: 1,0 mM de piruvato de sódio (número de artigo Cytion 820300a)
<b>Supplements</b>	Completar o meio com 10% de FBS
<b>Dissociation Reagent</b>	Accutase
<b>Subculturing</b>	Retirar o meio antigo das células aderentes e lavá-las com PBS sem cálcio e magnésio. Nos frascos T25, utilizar 3-5 ml de PBS e, nos frascos T75, 5-10 ml. Em seguida, cobrir completamente as células com Accutase, utilizando 1-2 ml para os frascos T25 e 2,5 ml para os frascos T75. Deixar as células incubar à temperatura ambiente durante 8-10 minutos para as destacar. Após a incubação, misturar suavemente as células com 10 ml de meio para as ressuspender e, em seguida, centrifugar a 300xg durante 3 minutos. Deitar fora o sobrenadante, ressuspender as células em meio fresco e transferi-las para novos frascos que já contenham meio fresco.
<b>Freeze medium</b>	Como meio de criopreservação, utilizamos um meio de crescimento completo (incluindo FBS) + 10% DMSO para uma viabilidade pós-descongelamento adequada, ou CM-1 (número de catálogo Cytion 800100), que inclui osmoprotectores otimizados e estabilizadores metabólicos para melhorar a recuperação e reduzir o stress induzido pela crio.

## Células L-WRN | 300641

### Thawing and Culturing Cells

1. Confirme que o frasco permanece profundamente congelado aquando da entrega, uma vez que as células são enviadas em gelo seco para manter as temperaturas ideais durante o transporte.
2. Após a receção, armazenar o frasco criogénico imediatamente a temperaturas inferiores a  $-150^{\circ}\text{C}$  para garantir a preservação da integridade celular, ou avançar para o passo 3 se for necessária uma cultura imediata.
3. Para uma cultura imediata, descongelar rapidamente o frasco imergindo-o num banho de água a  $37^{\circ}\text{C}$  com água limpa e um agente antimicrobiano, agitando suavemente durante 40-60 segundos até ficar um pequeno aglomerado de gelo.
4. Efetuar todos os passos subsequentes em condições estéreis numa capela de fluxo, desinfectando o frasco criogénico com etanol a 70% antes de o abrir.
5. Abrir cuidadosamente o frasco desinfectado e transferir a suspensão de células para um tubo de centrifugação de 15 ml contendo 8 ml de meio de cultura à temperatura ambiente, misturando suavemente.
6. Centrifugar a mistura a  $300 \times g$  durante 3 minutos para separar as células e eliminar cuidadosamente o sobrenadante que contém o meio de congelação residual.
7. Ressuspender suavemente o pellet de células em 10 ml de meio de cultura fresco. No caso de células aderentes, dividir a suspensão entre dois frascos de cultura T25; no caso de culturas em suspensão, transferir todo o meio para um frasco T25 para promover uma interação e um crescimento eficazes das células.
8. Cumprir os protocolos de subcultura estabelecidos para o crescimento e manutenção contínuos da linha celular, garantindo resultados experimentais fiáveis.

### Incubation Atmosphere

$37^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , atmosfera humidificada.

### Flask Coating

Nenhum

### Freezing Procedure

As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente  $-78^{\circ}\text{C}$  durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

## Células L-WRN | 300641

### Shipping Conditions

As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente -78 °C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

### Storage Conditions

Para conservação a longo prazo, colocar os frascos em azoto líquido em fase de vapor a uma temperatura entre -150 e -196 °C. O armazenamento a -80 °C é aceitável apenas como um curto passo intermédio antes da transferência para azoto líquido.

## Controlo de qualidade / Perfil genético / HLA

### Sterility

A contaminação por micoplasma é excluída utilizando ensaios baseados em PCR e métodos de deteção de micoplasma baseados em luminescência.

Para garantir que não há contaminação bacteriana, fúngica ou de leveduras, as culturas de células são sujeitas a inspecções visuais diárias.