

Celule L-WRN | 300641

Informații generale

Description

Linia celulară L-WRN este o linie celulară de fibroblaste murine derivată din celulele L, care sunt fibroblaste de șoarece izolate inițial din țesutul conjunctiv. Celulele L-WRN au fost modificate pentru a exprima stabil Wnt3a, R-spondin 3 și Noggin. Acești factori sunt esențiali pentru creșterea și menținerea organoizilor intestinali și a culturilor de celule stem. Supraexprimarea acestor proteine sporește proliferarea și diferențierea celulelor stem intestinale, făcând din celulele L-WRN un instrument valoros pentru studiul biologiei intestinale și modelarea bolilor.

În plus față de aplicarea lor în cultura organoidă, celulele L-WRN servesc drept model robust pentru investigarea căilor de semnalizare Wnt. Semnalarea Wnt este esențială în reglarea soartei, proliferării și migrației celulare în timpul dezvoltării și în țesuturile adulte. Prin furnizarea unei surse constante și controlate de Wnt3a, R-spondin 3 și Noggin, celulele L-WRN facilitează cercetarea mecanismelor moleculare care stau la baza acestor procese. Cercetătorii pot utiliza aceste celule pentru a diseca rolurile acestor molecule de semnalizare în diverse contexte biologice, inclusiv cancerul, regenerarea țesuturilor și biologia dezvoltării.

În general, linia celulară L-WRN este un instrument puternic în cercetarea biomedicală datorită capacității sale de a susține creșterea culturilor tridimensionale complexe și a utilității sale în studiul căilor de semnalizare cheie. Rolul său în avansarea cercetării celulelor stem intestinale și contribuțiile sale la înțelegerea semnalizării Wnt subliniază importanța sa în domeniul biologiei celulare și moleculare.

Organism Șoarece

Tissue Țesut conjunctiv

Applications cultură celulară 3D

Caracteristici

Breed/Subspecies C3H/An

Age 100 de zile

Gender Masculin

Morphology Fibroblast

Growth properties Aderent

Date de reglementare

Citation L-WRN (număr de catalog Cytion 300641)

Celule L-WRN | 300641

Biosafety level 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_DA06**GMO Status** GMO-S1: Această linie celulară murină derivată din NIH-3T3 (L-WRN) conține constructe de expresie pentru Wnt3a, R-spondin-3 și Noggin, inclusiv secvențe de ADN SV40 și markeri antibiotici dubli (hph și Tn5-neo), care permit secreția acestor molecule de semnalizare. Inserțiile sunt prezente în mod stabil în celulele bazate pe NIH-3T3. Această clasificare se aplică numai în Germania și poate diferi în alte țări.

Date biomoleculare

Protein expression Wnt-3A, R-spondin, noggin

Manipulare

Culture Medium DMEM, w: 4,5 g/L glucoză, w: 4 mM L-glutamină, w: 3,7 g/L NaHCO₃, w: 1,0 mM piruvat de sodiu (număr articol Cytion 820300a)**Supplements** Suplimentați mediul cu 10% FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Îndepărtați mediul vechi de pe celulele aderente și spălați-le cu PBS care nu conține calciu și magneziu. Pentru flacoanele T25, se utilizează 3-5 ml de PBS, iar pentru flacoanele T75, 5-10 ml. Apoi, se acoperă celulele complet cu Accutase, folosind 1-2 ml pentru flacoanele T25 și 2,5 ml pentru flacoanele T75. Lăsați celulele la incubare la temperatura camerei timp de 8-10 minute pentru a le detașa. După incubare, amestecați ușor celulele cu 10 ml de mediu pentru a le resuspenda, apoi centrifugați la 300xg timp de 3 minute. Aruncați supernatantul, resuspendați celulele în mediu proaspăt și transferați-le în flacoane noi care conțin deja mediu proaspăt.**Freeze medium** Ca mediu de crioconservare, folosim mediu de creștere complet (inclusiv FBS) + 10% DMSO pentru o viabilitate adecvată după dezghețare sau CM-1 (număr de catalog Cytion 800100), care include osmoprotectanți optimizați și stabilizatori metabolici pentru a spori recuperarea și a reduce stresul indus de criogenie.

Celule L-WRN | 300641

Thawing and Culturing Cells

1. Confirmați că flaconul rămâne profund înghețat la livrare, deoarece celulele sunt expediate pe gheață carbonică pentru a menține temperaturi optime în timpul transportului.
2. La primire, fie depozitați crioviola imediat la temperaturi sub -150 °C pentru a asigura păstrarea integrității celulare, fie treceți la etapa 3 dacă este necesară cultivarea imediată.
3. Pentru cultivarea imediată, dezghețați rapid flaconul prin scufundarea acestuia într-o baie de apă la 37 °C cu apă curată și un agent antimicrobian, agitându-l ușor timp de 40-60 de secunde până când rămâne o mică aglomerare de gheață.
4. Se efectuează toate etapele ulterioare în condiții sterile, într-o hotă cu flux, dezinfectând crioviola cu etanol 70% înainte de deschidere.
5. Se deschide cu grijă flaconul dezinfectat și se transferă suspensia celulară într-un tub de centrifugare de 15 ml care conține 8 ml de mediu de cultură la temperatura camerei, amestecând ușor.
6. Se centrifughează amestecul la 300 x g timp de 3 minute pentru a separa celulele și se aruncă cu grijă supernatantul care conține mediul de congelare rezidual.
7. Se resuspendă ușor peletul celular în 10 ml de mediu de cultură proaspăt. Pentru celulele aderente, împărțiți suspensia între două flacoane de cultură T25; pentru culturile în suspensie, transferați tot mediul într-un flacon T25 pentru a promova interacțiunea și creșterea celulară eficientă.
8. Respectați protocoalele de subcultură stabilite pentru creșterea și menținerea continuă a liniei celulare, asigurând rezultate experimentale fiabile.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO_2 , atmosferă umidificată.

Flask Coating

Niciuna

Freezing Procedure

Liniile celulare crioconservate sunt expediate pe gheață carbonică în ambalaje izolate, validate, cu suficient agent frigorific pentru a menține aproximativ -78 °C pe toată durata transportului. La primire, se inspectează imediat recipientul și se transferă fără întârziere fiolele în depozitul corespunzător.

Shipping Conditions

Liniile celulare crioconservate sunt expediate pe gheață carbonică în ambalaje izolate, validate, cu suficient agent frigorific pentru a menține aproximativ -78 °C pe toată durata transportului. La primire, se inspectează imediat recipientul și se transferă fără întârziere fiolele în depozitul corespunzător.

Celule L-WRN | 300641

Storage Conditions

Pentru conservarea pe termen lung, flacoanele se plasează în azot lichid în fază de vapori la o temperatură cuprinsă între -150 și -196 °C. Păstrarea la -80 °C este acceptabilă doar ca o scurtă etapă intermediară înainte de transferul în azot lichid.

Controlul calității / Profil genetic / HLA

Sterility

Contaminarea cu micoplasmă este exclusă utilizând atât teste bazate pe PCR, cât și metode de detectare a micoplasmei bazate pe luminescență.

Pentru a se asigura că nu există contaminare bacteriană, fungică sau de drojdie, culturile celulare sunt supuse unor inspecții vizuale zilnice.