

L-WRN-celler | 300641**Allmän information****Description**

L-WRN-cellinjen är en murin fibroblastcellinje som härrör från L-cellerna, vilka är musfibroblaster som ursprungligen isolerades från bindväv. L-WRN-cellerna har konstruerats för att stabilt uttrycka Wnt3a, R-spondin 3 och Noggin. Dessa faktorer är avgörande för tillväxt och underhåll av organoider och stamcellskulturer i tarmen. Överuttrycket av dessa proteiner ökar proliferationen och differentieringen av tarmens stamceller, vilket gör L-WRN-cellerna till ett värdefullt verktyg för studier av tarmens biologi och sjukdomsmodellering.

Förutom att L-WRN-celler kan användas i organoidkulturer är de en robust modell för att undersöka Wnt-signalvägar. Wnt-signalering är avgörande för att reglera cellöde, proliferation och migration under utveckling och i vuxna vävnader. Genom att tillhandahålla en konsekvent och kontrollerad källa till Wnt3a, R-spondin 3 och Noggin underlättar L-WRN-celler forskning om de molekylära mekanismer som ligger bakom dessa processer. Forskare kan använda dessa celler för att dissekera dessa signalmolekyler roller i olika biologiska sammanhang, inklusive cancer, vävnadsregenerering och utvecklingsbiologi.

Sammantaget är cellinjen L-WRN ett kraftfullt verktyg inom biomedicinsk forskning tack vare dess förmåga att stödja tillväxten av komplexa tredimensionella kulturer och dess användbarhet för att studera viktiga signalvägar. Dess roll i främjandet av tarmstamcellsforskningen och dess bidrag till vår förståelse av Wnt-signalering belyser dess betydelse inom cell- och molekylärbiologi.

Organism Mus**Tissue** Bindväv**Applications** 3D-cellkultur**Egenskaper****Breed/Subspecies** C3H/An**Age** 100 dagar**Gender** Man**Morphology** Fibroblast**Growth properties** Följsam**Lagstadgade uppgifter****Citation** L-WRN (Cytion katalognummer 300641)

L-WRN-celler | 300641**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_DA06**GMO Status** GMO-S1: Denna murina NIH-3T3-härledda cellinje (L-WRN) innehåller expressionskonstruktioner för Wnt3a, R-spondin-3 och Noggin, inklusive SV40-DNA-sekvenser och dubbla antibiotikamarkörer (hph och Tn5-neo), vilket möjliggör utsöndring av dessa signalmolekyler. Insatserna finns stabilt i NIH-3T3-baserade celler. Denna klassificering gäller endast inom Tyskland och kan skilja sig åt på andra håll.**Biomolekylära data****Protein expression** Wnt-3A, R-spondin, noggin**Hantering****Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/L glukos, w: 4 mM L-glutamin, w: 3,7 g/L NaHCO₃, w: 1,0 mM natriumpyruvat (Cytion artikelnummer 820300a)**Supplements** Komplettera mediet med 10% FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Ta bort det gamla mediet från de adherenta cellerna och tvätta dem med PBS som saknar kalcium och magnesium. Använd 3-5 ml PBS för T25-kolvar och 5-10 ml för T75-kolvar. Täck sedan cellerna helt med Accutase, använd 1-2 ml för T25-kolvar och 2,5 ml för T75-kolvar. Låt cellerna inkubera i rumstemperatur i 8-10 minuter så att de lossnar. Efter inkubationen, blanda cellerna försiktigt med 10 ml medium för att resuspendera dem och centrifugera sedan vid 300xg i 3 minuter. Kassera supernatanten, resuspendera cellerna i färskt medium och överför dem till nya kolvar som redan innehåller färskt medium.**Freeze medium** Som kryokonservationsmedium använder vi komplett tillväxtmedium (inklusive FBS) + 10% DMSO för adekvat viabilitet efter upptining, eller CM-1 (Cytion katalognummer 800100), som innehåller optimerade osmoprotektanter och metaboliska stabilisatorer för att förbättra återhämtningen och minska kryoinducerad stress.

L-WRN-celler | 300641

Thawing and Culturing Cells

1. Bekräfta att flaskan är djupfryst vid leverans, eftersom cellerna skickas på torris för att bibehålla optimala temperaturer under transporten.
2. Vid mottagandet ska du antingen förvara kryovialen omedelbart vid temperaturer under $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ för att säkerställa att cellernas integritet bevaras, eller gå vidare till steg 3 om omedelbar odling krävs.
3. Vid omedelbar odling ska injektionsflaskan snabbt tinas genom att den sänks ned i ett $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ vattenbad med rent vatten och ett antimikrobiellt medel och omrörs försiktigt i 40-60 sekunder tills en liten isklump återstår.
4. Utför alla efterföljande steg under sterila förhållanden i en flödeshuv och desinficera kryovialerna med 70 % etanol innan de öppnas.
5. Öppna försiktigt den desinficerade flaskan och överför cellsuspensionen till ett 15 ml centrifugrör som innehåller 8 ml rumstempererat odlingsmedium och blanda försiktigt.
6. Centrifugera blandningen vid $300 \times g$ i 3 minuter för att separera cellerna och kassera försiktigt supernatanten som innehåller resterande frysmedium.
7. Resuspendera försiktigt cellpelleten i 10 ml färskt odlingsmedium. För adherenta celler, fördela suspensionen mellan två T25-kulturkolv; för suspensionskulturer, överför allt medium till en T25-kolv för att främja effektiv cellinteraktion och tillväxt.
8. Följ fastställda subkulturprotokoll för fortsatt tillväxt och underhåll av cellinjen, vilket säkerställer tillförlitliga experimentella resultat.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , befuktad atmosfär.

Flask Coating

Ingen

Freezing Procedure

Kryopreserverade cellinjer skickas på torris i validerade, isolerade förpackningar med tillräckligt med kylmedel för att hålla cirka $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hela transporten. Vid mottagandet ska behållaren omedelbart inspekteras och flaskorna utan dröjsmål överföras till lämplig förvaring.

Shipping Conditions

Kryopreserverade cellinjer skickas på torris i validerade, isolerade förpackningar med tillräckligt med kylmedel för att hålla cirka $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hela transporten. Vid mottagandet ska behållaren omedelbart inspekteras och flaskorna utan dröjsmål överföras till lämplig förvaring.

L-WRN-celler | 300641

Storage Conditions

För långtidsförvaring, placera flaskorna i flytande kväve i ångfas vid ca -150 till -196 °C. Förvaring vid -80 °C är acceptabelt endast som ett kort mellanliggande steg innan överföring till flytande kväve.

Kvalitetskontroll / Genetisk profil / HLA

Sterility

Mykoplasmakontaminering utesluts med hjälp av både PCR-baserade analyser och luminiscensbaserade metoder för mykoplasmadiagnostik.

För att säkerställa att det inte finns någon kontaminering av bakterier, svamp eller jäst utsätts cellkulturerna för dagliga visuella inspektioner.