

Bunky L-WRN | 300641**Všeobecné informácie****Description**

Bunková línia L-WRN je línia myších fibroblastov odvodená z buniek L, čo sú myšie fibroblasty pôvodne izolované zo spojivového tkaniva. Bunky L-WRN boli vytvorené tak, aby stabilne exprimovali Wnt3a, R-spondín 3 a Noggin. Tieto faktory sú rozhodujúce pre rast a udržiavanie črevných organoidov a kultúr kmeňových buniek. Nadmerná expresia týchto proteínov zvyšuje proliferáciu a diferenciáciu črevných kmeňových buniek, vďaka čomu sú bunky L-WRN cenným nástrojom na štúdium črevnej biológie a modelovanie chorôb.

Okrem ich použitia v organoidných kultúrach slúžia bunky L-WRN ako robustný model na skúmanie signálnych dráh Wnt. Signalizácia Wnt je kľúčová pri regulácii osudu, proliferácie a migrácie buniek počas vývoja a v dospelých tkanivách. Tým, že bunky L-WRN poskytujú konzistentný a kontrolovaný zdroj Wnt3a, R-spondínu 3 a Nogginu, uľahčujú výskum molekulárnych mechanizmov, ktoré sú základom týchto procesov. Výskumníci môžu tieto bunky použiť na rozbor úloh týchto signálnych molekúl v rôznych biologických kontextoch vrátane rakoviny, regenerácie tkanív a vývojovej biológie.

Celkovo je bunková línia L-WRN výkonným nástrojom v biomedicínskom výskume vďaka svojej schopnosti podporovať rast komplexných trojrozmerných kultúr a jej využiteľnosti pri štúdiu kľúčových signálnych dráh. Jej úloha v rozvoji výskumu črevných kmeňových buniek a jej prínos k nášmu chápaniu signalizácie Wnt zdôrazňujú jej význam v oblasti bunkovej a molekulárnej biológie.

Organism Myš**Tissue** Spojivové tkanivo**Applications** 3D kultivácia buniek**Charakteristika****Breed/Subspecies** C3H/An**Age** 100 dní**Gender** Muži**Morphology** Fibroblasty**Growth properties** Adherent**Regulačné údaje****Citation** L-WRN (katalógové číslo Cytion 300641)

Bunky L-WRN | 300641**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_DA06**GMO Status** GMO-S1: Táto bunková línia (L-WRN) odvodená z myšieho NIH-3T3 obsahuje expresné konštrukty pre Wnt3a, R-spondin-3 a Noggin, vrátane sekvencií DNA SV40 a dvoch antibiotických markerov (hph a Tn5-neo), ktoré umožňujú sekréciu týchto signálnych molekúl. Vložky sú stabilne prítomné v bunkách na báze NIH-3T3. Táto klasifikácia platí len v Nemecku a v iných krajinách sa môže líšiť.**Biomolekulárne údaje****Protein expression** Wnt-3A, R-spondín, noggin**Spracovanie****Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/l glukózy, w: 4 mM L-glutamínu, w: 3,7 g/l NaHCO₃, w: 1,0 mM pyruvátu sodného (číslo výrobku Cytion 820300a)**Supplements** Doplníte médium o 10 % FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Odstráňte staré médium z adherovaných buniek a premyte ich PBS, ktorý neobsahuje vápnik a horčík. Pre banky T25 použite 3 - 5 ml PBS a pre banky T75 použite 5 - 10 ml. Potom bunky úplne pokryte Accutase, pričom použite 1 - 2 ml pre banky T25 a 2,5 ml pre banky T75. Nechajte bunky inkubovať pri izbovej teplote 8-10 minút, aby sa oddelili. Po inkubácii jemne premiešajte bunky s 10 ml média, aby boli znovu suspendované, a potom ich 3 minúty odstredíte pri 300xg. Supernatant zlikvidujte, bunky znovu rozmiešajte v čerstvom médiu a preneste ich do nových fliaš, ktoré už obsahujú čerstvé médium.**Freeze medium** Ako kryokonzervačné médium používame kompletne rastové médium (vrátane FBS) + 10 % DMSO na zabezpečenie primeranej životaschopnosti po rozmrazení alebo CM-1 (katalógové číslo 800100 spoločnosti Cytion), ktoré obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory na zlepšenie regenerácie a zníženie stresu spôsobeného kryom.

Bunky L-WRN | 300641

Thawing and Culturing Cells

1. Overte si, že injekčná liekovka zostane pri doručení hlboko zmrazená, pretože bunky sa prepravujú na suchom ľade, aby sa počas prepravy udržala optimálna teplota.
2. Po prijatí buď okamžite uskladnite kryovialku pri teplote nižšej ako $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, aby ste zabezpečili zachovanie bunkovej integrity, alebo prejdite na krok 3, ak je potrebná okamžitá kultivácia.
3. V prípade okamžitej kultivácie injekčnú liekovku rýchlo rozmrazte ponorením do vodného kúpeľa s teplotou $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ s čistou vodou a antimikrobiálnym prostriedkom, pričom ju jemne miešajte 40 - 60 sekúnd, kým nezostane malý ľadový chumáč.
4. Všetky ďalšie kroky vykonajte v sterilných podmienkach v prietokovom digestore a pred otvorením kryovialku dezinfikujte 70 % etanolom.
5. Opatrne otvorte dezinfikovanú fľaštičku a preneste bunkovú suspenziu do 15 ml centrifugačnej skúmavky obsahujúcej 8 ml kultivačného média s izbovou teplotou a jemne premiešajte.
6. Zmes odstreďujte pri $300 \times g$ počas 3 minút, aby sa bunky oddelili, a opatrne zlikvidujte supernatant obsahujúci zvyšky zmrazovacieho média.
7. Pelet buniek jemne resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačného média. V prípade adherentných buniek rozdeľte suspenziu medzi dve kultivačné banky T25; v prípade suspenzných kultúr preneste všetko médium do jednej banky T25, aby ste podporili účinnú interakciu a rast buniek.
8. Dodržiavajte zavedené subkultivačné protokoly na nepretržitý rast a udržiavanie bunkovej línie, čím sa zabezpečia spoľahlivé výsledky experimentov.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5 % CO_2 , zvlhčená atmosféra.

Flask Coating

Žiadne

Freezing Procedure

Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

Shipping Conditions

Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

Bunky L-WRN | 300641

**Storage
Conditions**

Na dlhodobé uchovávanie umiestnite injekčné liekovky do kvapalnej fázy dusíka v pare pri teplote približne -150 až -196 °C. Skladovanie pri teplote -80 °C je prijateľné len ako krátky prechodný krok pred presunom do tekutého dusíka.

Kontrola kvality / Genetický profil / HLA

Sterility

Kontaminácia mykoplazmami sa vylučuje pomocou testov založených na PCR a metód detekcie mykoplazmiem založených na luminiscencii.

Aby sa zabezpečilo, že nedošlo ku kontaminácii baktériami, hubami alebo kvasinkami, bunkové kultúry sa denne vizuálne kontrolujú.