

**Celice L-WRN | 300641****Splošne informacije****Description**

Celična linija L-WRN je mišja fibroblastna celična linija, pridobljena iz celic L, ki so mišji fibroblasti, prvotno izolirani iz vezivnega tkiva. Celice L-WRN so bile oblikovane tako, da stabilno izražajo Wnt3a, R-spondin 3 in Noggin. Ti dejavniki so ključni za rast in vzdrževanje črevesnih organoidov in kultur matičnih celic. Prekomerno izražanje teh beljakovin poveča proliferacijo in diferenciacijo črevesnih matičnih celic, zaradi česar so celice L-WRN dragoceno orodje za preučevanje črevesne biologije in modeliranje bolezni.

Poleg uporabe v organoidni kulturi so celice L-WRN zanesljiv model za raziskovanje signalnih poti Wnt. Signalizacija Wnt je ključna pri uravnavanju usode celic, proliferacije in migracije med razvojem in v odraslih tkivih. S tem, ko celice L-WRN zagotavljajo stalen in nadzorovan vir Wnt3a, R-spondina 3 in Noggina, omogočajo raziskave molekularnih mehanizmov, ki so osnova teh procesov. Raziskovalci lahko te celice uporabijo za raziskovanje vlog teh signalnih molekul v različnih bioloških kontekstih, vključno z rakom, regeneracijo tkiv in razvojno biologijo.

Na splošno je celična linija L-WRN močno orodje v biomedicinskih raziskavah, saj lahko podpira rast kompleksnih tridimenzionalnih kultur in je uporabna pri preučevanju ključnih signalnih poti. Njena vloga pri napredku raziskav črevesnih matičnih celic in njen prispevek k razumevanju signalizacije Wnt poudarjata njen pomen na področju celične in molekularne biologije.

**Organism**

Miška

**Tissue**

Vezivno tkivo

**Applications**

3D gojenje celic

**Značilnosti****Breed/Subspecies**

C3H/An

**Age**

100 dni

**Gender**

Moški

**Morphology**

Fibroblast

**Growth properties**

Pripadajoče

**Regulativni podatki****Citation**

L-WRN (Cytionova kataloška številka 300641)

**Celice L-WRN | 300641****Biosafety level** 1**NCBI\_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL\_DA06**GMO Status** GMO-S1: Ta mišja celična linija, pridobljena iz NIH-3T3 (L-WRN), vsebuje ekspresijske konstrukte za Wnt3a, R-spondin-3 in Noggin, vključno z zaporedji DNA SV40 in dvojnimi antibiotskimi markerji (hph in Tn5-neo), ki omogočajo izločanje teh signalnih molekul. Vstavki so stabilno prisotni v celicah na osnovi NIH-3T3. Ta klasifikacija velja samo v Nemčiji in se lahko drugje razlikuje.**Biomolekularni podatki****Protein expression** Wnt-3A, R-spondin, noggin**Ravnanje s spletno stranjo****Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/L glukoze, w: 4 mM L-glutamina, w: 3,7 g/L NaHCO<sub>3</sub>, w: 1,0 mM natrijevega piruvata (številka izdelka Cytion 820300a)**Supplements** Gojišče dopolnite z 10 % FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Odstranite staro gojišče z adherentnih celic in jih sperite s PBS, ki ne vsebuje kalcija in magnezija. Za bučke T25 uporabite 3-5 ml PBS, za bučke T75 pa 5-10 ml. Nato celice popolnoma prekrijte z Accutase, pri čemer uporabite 1-2 ml za bučke T25 in 2,5 ml za bučke T75. Celice pustite inkubirati pri sobni temperaturi 8-10 minut, da se ločijo. Po inkubaciji celice nežno premešajte z 10 ml gojišča, da se ponovno suspendirajo, nato jih 3 minute centrifugirajte pri 300xg. Zavržite supernatant, ponovno suspendirajte celice v svežem gojišču in jih prenesite v nove bučke, ki že vsebujejo sveže gojišče.**Freeze medium** Kot gojišče za kriokonzervacijo uporabljamo popolno rastno gojišče (vključno s FBS) + 10 % DMSO za ustrezno vitalnost po odmrznitvi ali CM-1 (kataloška številka 800100 podjetja Cytion), ki vključuje optimizirane osmoprotektante in presnovne stabilizatorje za izboljšanje okrevanja in zmanjšanje stresa, povzročene s kriom.

## Celice L-WRN | 300641

### Thawing and Culturing Cells

1. Prepričajte se, da je viala ob dostavi globoko zamrznjena, saj se celice pošiljajo na suhem ledu, da se med prevozom ohranijo optimalne temperature.
2. Po prejemu krioviala takoj shranite pri temperaturi pod  $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ , da zagotovite ohranitev celične celovitosti, ali pa nadaljujte s korakom 3, če je potrebno takojšnje gojenje.
3. Za takojšnje gojenje vialo hitro odtalite tako, da jo potopite v vodno kopel s čisto vodo in protimikrobnim sredstvom pri  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$  ter 40-60 sekund nežno mešate, dokler ne ostane majhen ledeni kepica.
4. Vse nadaljnje korake izvajajte v sterilnih pogojih v pretočni nape, pred odprtjem pa kriovial razkužite s 70 % etanolom.
5. Previdno odprite razkuženo vialo in celično suspenzijo prenesite v 15-mililitrsko centrifugirno epruveto, ki vsebuje 8 ml gojišča sobne temperature, ter nežno premešajte.
6. Mešanico centrifugirajte pri  $300 \times g$  3 minute, da ločite celice, in previdno zavržite supernatant, ki vsebuje ostanke zamrzovalnega gojišča.
7. Pelet celic nežno ponovno suspendirajte v 10 ml svežega gojišča. Pri adherentnih celicah suspenzijo razdelite med dve bučki T25; pri suspenzijskih kulturah prenesite vse gojišče v eno bučko T25, da spodbudite učinkovito interakcijo in rast celic.
8. Upoštevajte uveljavljene protokole subkultur za nadaljnjo rast in vzdrževanje celične linije ter tako zagotovite zanesljive rezultate poskusov.

### Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$ , 5 %  $\text{CO}_2$ , vlažno ozračje.

### Flask Coating

Nič

### Freezing Procedure

Kriokonzervirane celične linije se pošiljajo na suhem ledu v potrjeni, izolirani embalaži z zadostno količino hladilnega sredstva, da se med prevozom vzdržuje približno  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Ob prejemu takoj preglejte embalažo in vialo nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.

### Shipping Conditions

Kriokonzervirane celične linije se pošiljajo na suhem ledu v potrjeni, izolirani embalaži z zadostno količino hladilnega sredstva, da se med prevozom vzdržuje približno  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Ob prejemu takoj preglejte embalažo in vialo nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.

**Celice L-WRN | 300641**

**Storage  
Conditions**

Za dolgotrajno shranjevanje vial postavite v tekoči dušik v parni fazi pri približno -150 do -196 °C. Shranjevanje pri -80 °C je sprejemljivo le kot kratek vmesni korak pred prenosom v tekoči dušik.

**Nadzor kakovosti / Genetski profil / HLA**

**Sterility**

Kontaminacija z mikoplazmo se izključi z uporabo testov na podlagi PCR in metod za odkrivanje mikoplazme na podlagi luminiscence.

Da se zagotovi, da ni kontaminacije z bakterijami, glivami ali kvasovkami, se celične kulture dnevno vizualno pregledujejo.