

L-WRN клітини | 300641

Загальна інформація

Description

Клітинна лінія L-WRN - це клітинні лінії мишачих фібробластів, отримані з L-клітин, які є мишачими фібробластами, спочатку виділеними зі сполучної тканини. Клітини L-WRN були сконструйовані для стабільної експресії Wnt3a, R-спондину 3 та Noggin. Ці фактори є критично важливими для росту і підтримки кишкових органодів і культур стовбурових клітин. Надмірна експресія цих білків посилює проліферацію та диференціацію стовбурових клітин кишечника, що робить клітини L-WRN цінним інструментом для вивчення біології кишечника та моделювання захворювань.

Окрім застосування в культурі органодів, клітини L-WRN слугують надійною моделлю для дослідження сигнальних шляхів Wnt. Сигналізація Wnt відіграє ключову роль у регулюванні долі, проліферації та міграції клітин під час розвитку та в тканинах дорослої людини. Забезпечуючи постійне та контрольоване джерело Wnt3a, R-спондину 3 та Noggin, клітини L-WRN полегшують дослідження молекулярних механізмів, що лежать в основі цих процесів. Дослідники можуть використовувати ці клітини для вивчення ролі цих сигнальних молекул у різних біологічних контекстах, включаючи рак, регенерацію тканин та біологію розвитку.

Загалом, клітинні лінії L-WRN є потужним інструментом у біомедичних дослідженнях завдяки своїй здатності підтримувати ріст складних тривимірних культур та корисності у вивченні ключових сигнальних шляхів. Її роль у розвитку досліджень стовбурових клітин кишечника та внесок у наше розуміння сигналізації Wnt підкреслюють її важливість у галузі клітинної та молекулярної біології.

Organism

Миша

Tissue

Сполучна тканина

Applications

3D-культура клітин

Характеристики

Breed/Subspecies

СЗН/An

Age

100 днів

Gender

Чоловік

Morphology

Фібробласт

Growth properties

Адепт

Нормативні дані

L-WRN клітини | 300641

Citation	L-WRN (номер за каталогом Cytion 300641)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_DA06
GMO Status	GMO-S1: Ця мишача клітинна лінія, похідна від NIH-3T3 (L-WRN), містить конструкти експресії для Wnt3a, R-spondin-3 та Noggin, включаючи послідовності ДНК SV40 та подвійні антибіотичні маркери (hph та Tn5-neo), що забезпечують секрецію цих сигнальних молекул. Вставки стабільно присутні в клітинах на основі NIH-3T3. Ця класифікація застосовується тільки в Німеччині і може відрізнитися в інших країнах.

Біомолекулярні дані

Protein expression	Wnt-3A, R-спондин, мозок
---------------------------	--------------------------

Обробка

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 г/л Глюкоза, w: 4 мМ L-глутамін, w: 3,7 г/л NaHCO ₃ , w: 1,0 мМ піруват натрію (цит. номер 820300a)
Supplements	Додайте до середовища 10% FBS
Dissociation Reagent	Аккутаза
Subculturing	Видаліть старе середовище з прилиплих клітин і промийте їх PBS, в якому бракує кальцію і магнію. Для колб T25 використовуйте 3-5 мл PBS, а для колб T75 - 5-10 мл. Потім повністю покрийте клітини аккутазою, використовуючи 1-2 мл для колб T25 і 2,5 мл для колб T75. Залиште клітини інкубуватися при кімнатній температурі протягом 8-10 хвилин, щоб відокремити їх. Після інкубації обережно змішайте клітини з 10 мл середовища, щоб ресуспендувати їх, а потім центрифугуйте при 300xg протягом 3 хвилин. Викиньте надосадову рідину, ресуспендуйте клітини у свіжому середовищі та перенесіть їх у нові колби, які вже містять свіже середовище.
Freeze medium	Як середовище криоконсервування ми використовуємо повне живильне середовище (включаючи FBS) + 10% ДМСО для адекватної життєздатності після відтавання або CM-1 (номер за каталогом Cytion 800100), до складу якого входять оптимізовані осмопротектори та метаболічні стабілізатори для прискорення відновлення та зменшення криоіндукованого стресу.

L-WRN клітини | 300641**Thawing and
Culturing Cells**

1. Переконайтеся, що віал залишається глибоко замороженим після доставки, оскільки клітини транспортуються на сухому льоду для підтримання оптимальної температури під час транспортування.
2. Після отримання негайно зберігайте кріовіал при температурі нижче -150°C , щоб забезпечити збереження клітинної цілісності, або перейдіть до кроку 3, якщо потрібне негайне культивування.
3. Для негайного культивування швидко розморозьте віал, зануливши його у водяну баню з чистою водою і антимікробним засобом при температурі 37°C , обережно перемішуючи протягом 40-60 секунд, поки не залишиться невелика крижана грудка.
4. Всі наступні кроки виконуйте в стерильних умовах у проточній витяжній шафі, дезінфікуючи кріовіал 70% етанолом перед відкриттям.
5. Обережно відкрийте продезінфікований флакон і перенесіть клітинну суспензію в 15 мл центрифужну пробірку, що містить 8 мл культурального середовища кімнатної температури, обережно перемішуючи.
6. Відцентрифугуйте суміш при $300 \times g$ протягом 3 хвилин, щоб відокремити клітини, і обережно викиньте надосадову рідину, що містить залишки заморожувального середовища.
7. Обережно ресуспендуйте осад клітин у 10 мл свіжого культурального середовища. Для адгезивних клітин розділіть суспензію між двома культуральними колбами T25; для суспензійних культур перенесіть все середовище в одну колбу T25, щоб сприяти ефективній взаємодії та росту клітин.
8. Дотримуйтеся встановлених протоколів субкультивування для продовження росту і підтримання клітинної лінії, забезпечуючи надійні результати експерименту.

**Incubation
Atmosphere**

37°C , 5% CO_2 , волога атмосфера.

Flask Coating

Ні

**Freezing
Procedure**

Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевірній ізольованій упаковці з достатньою кількістю холодоагенту для підтримання температури приблизно -78°C під час транспортування. При отриманні негайно огляньте контейнер і негайно перемістіть віали у відповідне місце для зберігання.

L-WRN клітини | 300641

Shipping Conditions

Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевірній ізольованій упаковці з достатньою кількістю холодоагенту для підтримання температури приблизно -78 °C під час транспортування. При отриманні негайно огляньте контейнер і негайно перемістіть віали у відповідне місце для зберігання.

Storage Conditions

Для тривалого зберігання помістіть флакони в парофазний рідкий азот при температурі від -150 до -196 °C. Зберігання при -80 °C допустиме лише як короткий проміжний етап перед перенесенням у рідкий азот.

Контроль якості / Генетичний профіль / HLA

Sterility

Зараження мікоплазмою виключається за допомогою аналізів на основі ПЛР та люмінесцентних методів виявлення мікоплазми.

Щоб переконатися у відсутності бактеріального, грибового або дріжджового забруднення, клітинні культури піддаються щоденному візуальному контролю.