

Células L-WRN | 300641**Información general****Description**

La línea celular L-WRN es una línea de fibroblastos murinos derivada de las células L, que son fibroblastos de ratón aislados originalmente del tejido conectivo. Las células L-WRN han sido modificadas genéticamente para expresar de manera estable Wnt3a, R-spondin 3 y Noggin. Estos factores son fundamentales para el crecimiento y el mantenimiento de los organoides intestinales y los cultivos de células madre. La sobreexpresión de estas proteínas potencia la proliferación y la diferenciación de las células madre intestinales, lo que convierte a las células L-WRN en una herramienta valiosa para el estudio de la biología intestinal y la modelación de enfermedades.

Además de su aplicación en el cultivo de organoides, las células L-WRN sirven como un modelo sólido para investigar las vías de señalización Wnt. La señalización Wnt es fundamental para regular el destino celular, la proliferación y la migración durante el desarrollo y en los tejidos adultos. Al proporcionar una fuente constante y controlada de Wnt3a, R-spondin 3 y Noggin, las células L-WRN facilitan la investigación de los mecanismos moleculares que subyacen a estos procesos. Los investigadores pueden utilizar estas células para analizar las funciones de estas moléculas de señalización en diversos contextos biológicos, incluyendo el cáncer, la regeneración de tejidos y la biología del desarrollo.

En general, la línea celular L-WRN es una herramienta poderosa en la investigación biomédica debido a su capacidad para soportar el crecimiento de cultivos tridimensionales complejos y a su utilidad en el estudio de vías de señalización clave. Su papel en el avance de la investigación con células madre intestinales y sus contribuciones a nuestra comprensión de la señalización Wnt resaltan su importancia en el campo de la biología celular y molecular.

Organism Ratón**Tissue** Tejido conectivo**Applications** Cultivo celular en 3D**Características****Breed/Subspecies** C3H/An**Age** 100 días**Gender** Hombre**Morphology** Fibroblasto**Growth properties** Adherente**Datos normativos**

Células L-WRN | 300641

Citation	L-WRN (número de catálogo de Cytion 300641)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_DA06
GMO Status	GMO-S1: Esta línea celular murina derivada de NIH-3T3 (L-WRN) contiene constructos de expresión para Wnt3a, R-spondin-3 y Noggin, que incluyen secuencias de ADN de SV40 y marcadores antibióticos duales (hph y Tn5-neo), lo que permite la secreción de estas moléculas de señalización. Los insertos están presentes de manera estable en las células derivadas de NIH-3T3. Esta clasificación se aplica únicamente en Alemania y puede variar en otros países.

Datos biomoleculares

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

Manejo

Culture Medium	DMEM, p/v: 4,5 g/L de glucosa, p/v: 4 mM de L-glutamina, p/v: 3,7 g/L de NaHCO ₃ , p/v: 1,0 mM de piruvato de sodio (número de artículo de Cytion 820300a)
Supplements	Añade al medio un 10 % de FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Retira el medio usado de las células adheridas y lávalas con PBS sin calcio ni magnesio. Para los frascos T25, usa de 3 a 5 ml de PBS, y para los frascos T75, usa de 5 a 10 ml. Luego, cubra las células por completo con Accutase, utilizando de 1 a 2 ml para los frascos T25 y 2,5 ml para los frascos T75. Deje que las células se incuben a temperatura ambiente durante 8 a 10 minutos para desprenderse. Después de la incubación, mezcla suavemente las células con 10 ml de medio para resuspenderlas; luego, centrifuga a 300xg durante 3 minutos. Deseche el sobrenadante, resuspenda las células en medio fresco y transfíralas a frascos nuevos que ya contengan medio fresco.
Freeze medium	Como medio de criopreservación, utilizamos un medio de crecimiento completo (que incluye FBS) + 10 % de DMSO para garantizar una viabilidad adecuada tras la descongelación, o CM-1 (número de catálogo de Cytion 800100), que incluye osmoprotectores y estabilizadores metabólicos optimizados para mejorar la recuperación y reducir el estrés inducido por la criopreservación.

Células L-WRN | 300641

Thawing and Culturing Cells

1. Verifique que el vial se mantenga profundamente congelado al momento de la entrega, ya que las células se envían en hielo seco para mantener temperaturas óptimas durante el transporte.
2. Al recibirlo, almacene el criovial inmediatamente a temperaturas inferiores a $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ para garantizar la preservación de la integridad celular, o bien continúe con el paso 3 si se requiere un cultivo inmediato.
3. Para el cultivo inmediato, descongele rápidamente el vial sumergiéndolo en un baño de agua a $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ con agua limpia y un agente antimicrobiano, agitando suavemente durante 40 a 60 segundos hasta que quede un pequeño trozo de hielo.
4. Realice todos los pasos posteriores en condiciones estériles bajo una cabina de flujo laminar, desinfectando el criovial con etanol al 70 % antes de abrirlo.
5. Abra con cuidado el vial desinfectado y transfiera la suspensión celular a un tubo de centrifuga de 15 ml que contenga 8 ml de medio de cultivo a temperatura ambiente, mezclando suavemente.
6. Centrifugue la mezcla a $300 \times g$ durante 3 minutos para separar las células y deseche con cuidado el sobrenadante que contenga medio de congelación residual.
7. Resuspende suavemente el sedimento celular en 10 ml de medio de cultivo fresco. Para las células adherentes, divide la suspensión entre dos frascos de cultivo T25; para los cultivos en suspensión, transfiera todo el medio a un solo frasco T25 para promover una interacción y un crecimiento celular efectivos.
8. Siga los protocolos de subcultivo establecidos para el crecimiento y mantenimiento continuos de la línea celular, asegurando resultados experimentales confiables.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5 % de CO_2 , atmósfera humidificada.

Shipping Conditions

Las líneas celulares criopreservadas se envían en hielo seco, en un embalaje aislante validado que contiene suficiente refrigerante para mantener una temperatura de aproximadamente $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ durante todo el transporte. Al recibir el envío, revise el contenedor de inmediato y traslade los viales sin demora al lugar de almacenamiento adecuado.

Storage Conditions

Para la conservación a largo plazo, coloque los viales en nitrógeno líquido en fase de vapor a una temperatura de entre -150 y $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$, aproximadamente. El almacenamiento a $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ solo es aceptable como un paso intermedio breve antes de transferirlos al nitrógeno líquido.

Células L-WRN | 300641

Control de calidad y análisis molecular

Sterility

Se descarta la contaminación por micoplasmas mediante ensayos basados en PCR y métodos de detección de micoplasmas basados en luminiscencia.

Para garantizar que no haya contaminación bacteriana, fúngica o por levaduras, los cultivos celulares se someten a inspecciones visuales diarias.