

Cellules L-WRN | 300641**Renseignements généraux****Description**

La lignée cellulaire L-WRN est une lignée de fibroblastes murins dérivée des cellules L, qui sont des fibroblastes de souris initialement isolés à partir de tissu conjonctif. Les cellules L-WRN ont été modifiées génétiquement pour exprimer de manière stable les protéines Wnt3a, R-spondin 3 et Noggin. Ces facteurs sont essentiels à la croissance et au maintien des organoïdes intestinaux et des cultures de cellules souches. La surexpression de ces protéines favorise la prolifération et la différenciation des cellules souches intestinales, faisant des cellules L-WRN un outil précieux pour l'étude de la biologie intestinale et la modélisation des maladies.

En plus de leur application dans la culture d'organoïdes, les cellules L-WRN constituent un modèle robuste pour l'étude des voies de signalisation Wnt. La signalisation Wnt joue un rôle central dans la régulation du destin cellulaire, de la prolifération et de la migration au cours du développement et dans les tissus adultes. En fournissant une source constante et contrôlée de Wnt3a, de R-spondin 3 et de Noggin, les cellules L-WRN facilitent la recherche sur les mécanismes moléculaires sous-jacents à ces processus. Les chercheurs peuvent utiliser ces cellules pour analyser les rôles de ces molécules de signalisation dans divers contextes biologiques, notamment le cancer, la régénération tissulaire et la biologie du développement.

Dans l'ensemble, la lignée cellulaire L-WRN constitue un outil puissant pour la recherche biomédicale grâce à sa capacité à soutenir la croissance de cultures tridimensionnelles complexes et à son utilité dans l'étude des voies de signalisation clés. Son rôle dans l'avancement de la recherche sur les cellules souches intestinales et sa contribution à notre compréhension de la signalisation Wnt soulignent son importance dans le domaine de la biologie cellulaire et moléculaire.

Organism Souris**Tissue** Tissu conjonctif**Applications** Culture cellulaire en 3D**Caractéristiques****Breed/Subspecies** C3H/An**Age** 100 jours**Gender** Homme**Morphology** Fibroblaste**Growth properties** Adepté**Données réglementaires**

Cellules L-WRN | 300641

Citation	L-WRN (numéro de catalogue Cytion 300641)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_DA06
GMO Status	GMO-S1 : Cette lignée cellulaire murine dérivée de NIH-3T3 (L-WRN) contient des constructions d'expression pour Wnt3a, R-spondin-3 et Noggin, comprenant des séquences d'ADN SV40 et deux marqueurs antibiotiques (hph et Tn5-neo), permettant la sécrétion de ces molécules de signalisation. Les inserts sont présents de manière stable dans les cellules dérivées de NIH-3T3. Cette classification s'applique uniquement en Allemagne et peut différer ailleurs.

Données biomoléculaires

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

Manipulation

Culture Medium	DMEM, p/v : 4,5 g/L de glucose, p/v : 4 mM de L-glutamine, p/v : 3,7 g/L de NaHCO ₃ , p/v : 1,0 mM de pyruvate de sodium (référence Cytion 820300a)
-----------------------	--

Supplements	Ajouter 10 % de FBS au milieu de culture
--------------------	--

Dissociation Reagent	Accutase
-----------------------------	----------

Subculturing	Retirez l'ancien milieu des cellules adhérentes et lavez-les avec du PBS sans calcium ni magnésium. Pour les flacons T25, utilisez 3 à 5 ml de PBS, et pour les flacons T75, utilisez 5 à 10 ml. Ensuite, recouvrez complètement les cellules d'Accutase, en utilisant 1 à 2 ml pour les flacons T25 et 2,5 ml pour les flacons T75. Laissez les cellules incuber à température ambiante pendant 8 à 10 minutes afin de les détacher. Après l'incubation, mélangez délicatement les cellules avec 10 ml de milieu pour les remettre en suspension, puis centrifugez à 300 x g pendant 3 minutes. Éliminez le surnageant, remettez les cellules en suspension dans du milieu frais, puis transférez-les dans de nouveaux flacons contenant déjà du milieu frais.
---------------------	---

Freeze medium	Comme milieu de cryoconservation, nous utilisons un milieu de croissance complet (contenant du sérum foetal bovin) + 10 % de DMSO pour assurer une viabilité adéquate après décongélation, ou du CM-1 (référence Cytion 800100), qui contient des osmoprotecteurs et des stabilisateurs métaboliques optimisés pour améliorer la récupération et réduire le stress induit par la cryoconservation.
----------------------	--

Cellules L-WRN | 300641

Thawing and Culturing Cells

1. Assurez-vous que le flacon reste bien congelé à la livraison, car les cellules sont expédiées sur de la glace sèche afin de maintenir des températures optimales pendant le transport.
2. À la réception, conservez immédiatement le cryofiole à une température inférieure à -150 °C pour garantir la préservation de l'intégrité cellulaire, ou passez à l'étape 3 si une culture immédiate est nécessaire.
3. Pour une culture immédiate, décongelez rapidement le flacon en l'immergeant dans un bain-marie à 37 °C contenant de l'eau propre et un agent antimicrobien, en agitant doucement pendant 40 à 60 secondes jusqu'à ce qu'il ne reste qu'un petit morceau de glace.
4. Effectuez toutes les étapes suivantes dans des conditions stériles sous une hotte à flux laminaire, en désinfectant le cryotube avec de l'éthanol à 70 % avant de l'ouvrir.
5. Ouvrez avec précaution le flacon désinfecté et transférez la suspension cellulaire dans un tube à centrifuger de 15 ml contenant 8 ml de milieu de culture à température ambiante, en mélangeant délicatement.
6. Centrifuger le mélange à $300 \times g$ pendant 3 minutes pour séparer les cellules, puis jeter avec précaution le surnageant contenant le milieu de congélation résiduel.
7. Remettre délicatement le culot cellulaire en suspension dans 10 ml de milieu de culture frais. Pour les cellules adhérentes, répartir la suspension dans deux flacons de culture T25; pour les cultures en suspension, transférer la totalité du milieu dans un seul flacon T25 afin de favoriser une interaction et une croissance cellulaires efficaces.
8. Respectez les protocoles de sous-culture établis pour assurer la croissance continue et le maintien de la lignée cellulaire, garantissant ainsi des résultats expérimentaux fiables.

Incubation Atmosphere

37 °C , 5 % de CO_2 , atmosphère humidifiée.

Shipping Conditions

Les lignées cellulaires cryoconservées sont expédiées dans de la glace sèche, dans un emballage isotherme validé contenant suffisamment de réfrigérant pour maintenir une température d'environ -78 °C pendant tout le transport. À la réception, inspectez immédiatement le conteneur et transférez sans délai les flacons dans un lieu de stockage approprié.

Storage Conditions

Pour une conservation à long terme, placez les flacons dans de l'azote liquide en phase vapeur à une température comprise entre environ -150 et -196 °C . L'entreposage à -80 °C n'est acceptable qu'à titre d'étape intermédiaire de courte durée avant le transfert dans l'azote liquide.

Contrôle de la qualité et analyse moléculaire

Sterility

La contamination par les mycoplasmes est exclue à l'aide de tests basés sur la PCR et de méthodes de détection des mycoplasmes par luminescence.

Afin de s'assurer qu'il n'y a aucune contamination bactérienne, fongique ou par des levures, les cultures cellulaires font l'objet d'inspections visuelles quotidiennes.