

Células L-WRN | 300641**Informações gerais****Description**

A linhagem celular L-WRN é uma linhagem de fibroblastos murinos derivada das células L, que são fibroblastos de camundongo originalmente isolados do tecido conjuntivo. As células L-WRN foram geneticamente modificadas para expressar de forma estável Wnt3a, R-spondin 3 e Noggin. Esses fatores são essenciais para o crescimento e a manutenção de organoides intestinais e culturas de células-tronco. A superexpressão dessas proteínas aumenta a proliferação e a diferenciação das células-tronco intestinais, tornando as células L-WRN uma ferramenta valiosa para o estudo da biologia intestinal e a modelagem de doenças.

Além de sua aplicação na cultura de organoides, as células L-WRN servem como um modelo robusto para a investigação das vias de sinalização Wnt. A sinalização Wnt é fundamental na regulação do destino celular, da proliferação e da migração durante o desenvolvimento e nos tecidos adultos. Ao fornecer uma fonte consistente e controlada de Wnt3a, R-spondin 3 e Noggin, as células L-WRN facilitam a pesquisa sobre os mecanismos moleculares subjacentes a esses processos. Os pesquisadores podem usar essas células para analisar os papéis dessas moléculas de sinalização em vários contextos biológicos, incluindo câncer, regeneração tecidual e biologia do desenvolvimento.

De modo geral, a linhagem celular L-WRN é uma ferramenta poderosa na pesquisa biomédica devido à sua capacidade de sustentar o crescimento de culturas tridimensionais complexas e à sua utilidade no estudo de vias de sinalização fundamentais. Seu papel no avanço da pesquisa com células-tronco intestinais e suas contribuições para nossa compreensão da sinalização Wnt destacam sua importância no campo da biologia celular e molecular.

Organism Mouse**Tissue** Tecido conjuntivo**Applications** Cultura celular 3D**Características****Breed/Subspecies** C3H/An**Age** 100 dias**Gender** Masculino**Morphology** Fibroblasto**Growth properties** Aderente**Dados regulatórios**

Células L-WRN | 300641**Citation** L-WRN (número de catálogo da Cytion 300641)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_DA06**GMO Status** GMO-S1: Esta linhagem celular murina derivada de NIH-3T3 (L-WRN) contém construções de expressão para Wnt3a, R-spondin-3 e Noggin, incluindo sequências de DNA do SV40 e marcadores antibióticos duplos (hph e Tn5-neo), permitindo a secreção dessas moléculas de sinalização. As inserções estão presentes de forma estável nas células derivadas de NIH-3T3. Esta classificação se aplica apenas na Alemanha e pode diferir em outros países.**Dados biomoleculares****Protein expression** Wnt-3A, R-spondin, noggin**Manuseio****Culture Medium** DMEM, p/v: 4,5 g/L de glicose, p/v: 4 mM de L-glutamina, p/v: 3,7 g/L de NaHCO₃, p/v: 1,0 mM de piruvato de sódio (número de artigo da Cytion 820300a)**Supplements** Adicione 10% de FBS ao meio**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Remova o meio antigo das células aderentes e lave-as com PBS sem cálcio nem magnésio. Para frascos T25, use 3 a 5 ml de PBS; para frascos T75, use 5 a 10 ml. Em seguida, cubra as células completamente com Accutase, utilizando 1 a 2 ml para frascos T25 e 2,5 ml para frascos T75. Deixe as células incubarem à temperatura ambiente por 8 a 10 minutos para que se desprendam. Após a incubação, misture delicadamente as células com 10 ml de meio para ressuspender, depois centrifugue a 300xg por 3 minutos. Descarte o sobrenadante, ressuspenda as células em meio fresco e transfira-as para novos frascos que já contenham meio fresco.**Freeze medium** Como meio de criopreservação, utilizamos meio de crescimento completo (incluindo FBS) + 10% de DMSO para garantir viabilidade adequada após o descongelamento, ou CM-1 (número de catálogo da Cytion 800100), que inclui osmoprotetores e estabilizadores metabólicos otimizados para melhorar a recuperação e reduzir o estresse induzido pela criopreservação.

Células L-WRN | 300641

Thawing and Culturing Cells

1. Verifique se o frasco permanece profundamente congelado no momento da entrega, pois as células são enviadas em gelo seco para manter as temperaturas ideais durante o transporte.
2. Após o recebimento, armazene o criovial imediatamente a temperaturas abaixo de -150 °C para garantir a preservação da integridade celular ou prossiga para a etapa 3, caso seja necessária a cultura imediata.
3. Para cultura imediata, descongele rapidamente o frasco imergindo-o em um banho-maria a 37 °C com água limpa e um agente antimicrobiano, agitando suavemente por 40 a 60 segundos até que reste apenas um pequeno pedaço de gelo.
4. Realize todas as etapas subsequentes em condições estéreis em uma cabine de fluxo, desinfetando o criovial com etanol a 70% antes de abri-lo.
5. Abra cuidadosamente o frasco desinfetado e transfira a suspensão celular para um tubo de centrifuga de 15 ml contendo 8 ml de meio de cultura à temperatura ambiente, misturando delicadamente.
6. Centrifugue a mistura a 300 x g por 3 minutos para separar as células e descarte cuidadosamente o sobrenadante contendo o meio de congelamento residual.
7. Ressuspender suavemente o sedimento celular em 10 ml de meio de cultura fresco. Para células aderentes, dividir a suspensão entre dois frascos de cultura T25; para culturas em suspensão, transferir todo o meio para um frasco T25 a fim de promover a interação e o crescimento celular eficazes.
8. Siga os protocolos de subcultura estabelecidos para o crescimento contínuo e a manutenção da linhagem celular, garantindo resultados experimentais confiáveis.

Incubation Atmosphere

37 °C, 5% de CO₂, atmosfera umidificada.

Shipping Conditions

As linhagens celulares criopreservadas são enviadas em gelo seco, em embalagens isoladas e validadas, com refrigerante suficiente para manter a temperatura em aproximadamente -78 °C durante todo o transporte. Ao receber a remessa, inspecione o recipiente imediatamente e transfira os frascos sem demora para o local de armazenamento adequado.

Storage Conditions

Para preservação a longo prazo, coloque os frascos em nitrogênio líquido em fase de vapor a uma temperatura entre aproximadamente -150 e -196 °C. O armazenamento a -80 °C é aceitável apenas como uma etapa intermediária de curta duração antes da transferência para o nitrogênio líquido.

Controle de Qualidade e Análise Molecular

Células L-WRN | 300641

Sterility

A contaminação por micoplasma é descartada por meio de ensaios baseados em PCR e de métodos de detecção de micoplasma baseados em luminescência.

Para garantir que não haja contaminação por bactérias, fungos ou leveduras, as culturas celulares são submetidas a inspeções visuais diárias.