

**Tế bào L-WRN | 300641****Thông tin chung****Description**

Dòng tế bào L-WRN là một dòng tế bào sợi của chuột được phân lập từ các tế bào L, vốn là các tế bào sợi của chuột ban đầu được phân lập từ mô liên kết. Các tế bào L-WRN đã được biến đổi gen để biểu hiện ổn định các protein Wnt3a, R-spondin 3 và Noggin. Các yếu tố này đóng vai trò quan trọng trong sự phát triển và duy trì của các tổ chức ruột và văn hóa tế bào gốc. Sự biểu hiện quá mức của các protein này làm tăng cường sự phân chia và biệt hóa của tế bào gốc ruột, khiến các tế bào L-WRN trở thành công cụ quý giá để nghiên cứu sinh học ruột và mô hình hóa bệnh tật.

Ngoài ứng dụng trong nuôi cấy organoid, các tế bào L-WRN còn là mô hình mạnh mẽ để nghiên cứu các con đường tín hiệu Wnt. Tín hiệu Wnt đóng vai trò quan trọng trong việc điều chỉnh số phận tế bào, sự phân chia và di chuyển trong quá trình phát triển và trong các mô người lớn. Bằng cách cung cấp một nguồn ổn định và được kiểm soát của Wnt3a, R-spondin 3 và Noggin, các tế bào L-WRN hỗ trợ nghiên cứu về các cơ chế phân tử cơ bản của các quá trình này. Các nhà nghiên cứu có thể sử dụng các tế bào này để phân tích vai trò của các phân tử tín hiệu này trong các bối cảnh sinh học khác nhau, bao gồm ung thư, tái tạo mô và sinh học phát triển.

Tổng thể, dòng tế bào L-WRN là một công cụ mạnh mẽ trong nghiên cứu y sinh học nhờ khả năng hỗ trợ sự phát triển của các văn hóa ba chiều phức tạp và tính hữu ích của nó trong việc nghiên cứu các con đường tín hiệu quan trọng. Vai trò của nó trong việc thúc đẩy nghiên cứu tế bào gốc ruột và đóng góp của nó vào sự hiểu biết về tín hiệu Wnt nhấn mạnh tầm quan trọng của nó trong lĩnh vực sinh học tế bào và phân tử.

**Organism** Chuột**Tissue** Mô liên kết**Applications** văn hóa tế bào 3D**Đặc điểm****Breed/Subspecies** C3H/An**Age** 100 ngày**Gender** Nam**Morphology** Tế bào sợi**Growth properties** Người tuân thủ**Dữ liệu quy định****Citation** L-WRN (Số catalog Cytion 300641)

**Tế bào L-WRN | 300641****Biosafety level** 1**NCBI\_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL\_DA06

**GMO Status** GMO-S1: Dòng tế bào NIH-3T3 của chuột (L-WRN) này chứa các cấu trúc biểu hiện cho Wnt3a, R-spondin-3 và Noggin, bao gồm các trình tự DNA SV40 và các dấu hiệu kháng sinh kép (hph và Tn5-neo), cho phép tiết ra các phân tử tín hiệu này. Các đoạn chèn được duy trì ổn định trong các tế bào dựa trên NIH-3T3. Phân loại này chỉ áp dụng tại Đức và có thể khác nhau ở các khu vực khác.

**Dữ liệu sinh học phân tử****Protein expression** Wnt-3A, R-spondin, noggin**Xử lý****Culture Medium** DMEM, chứa: 4,5 g/L glucose, chứa: 4 mM L-glutamine, chứa: 3,7 g/L NaHCO<sub>3</sub>, chứa: 1,0 mM natri pyruvate (số hiệu sản phẩm Cytion 820300a)**Supplements** Bổ sung 10% huyết thanh bò phôi (FBS) vào môi trường nuôi cấy**Dissociation Reagent** Accutase

**Subculturing** Loại bỏ môi trường nuôi cấy cũ khỏi các tế bào bám dính và rửa chúng bằng PBS không chứa canxi và magiê. Đối với bình T25, sử dụng 3-5 ml PBS, và đối với bình T75, sử dụng 5-10 ml. Sau đó, phủ hoàn toàn các tế bào bằng Accutase, sử dụng 1-2 ml cho bình T25 và 2,5 ml cho bình T75. Để tế bào ủ ở nhiệt độ phòng trong 8-10 phút để tách chúng ra. Sau khi ủ, nhẹ nhàng trộn tế bào với 10 ml môi trường để tái phân tán chúng, sau đó ly tâm ở 300xg trong 3 phút. Loại bỏ dịch trên, tái phân tán tế bào trong môi trường tươi và chuyển chúng vào các bình mới đã chứa môi trường tươi.

**Freeze medium** Như một môi trường bảo quản đông lạnh, chúng tôi sử dụng môi trường tăng trưởng hoàn chỉnh (bao gồm FBS) + 10% DMSO để đảm bảo độ sống sau khi rã đông, hoặc CM-1 (mã sản phẩm Cytion 800100), bao gồm các chất bảo vệ thẩm thấu và chất ổn định chuyển hóa được tối ưu hóa để nâng cao khả năng phục hồi và giảm stress do đông lạnh gây ra.

**Tế bào L-WRN | 300641****Thawing and  
Culturing Cells**

1. Xác nhận rằng ống nghiệm vẫn được đông lạnh sâu khi giao hàng, vì tế bào được vận chuyển trên đá khô để duy trì nhiệt độ tối ưu trong quá trình vận chuyển.
2. Khi nhận hàng, hãy bảo quản ống nghiệm đông lạnh ngay lập tức ở nhiệt độ dưới  $-150^{\circ}\text{C}$  để đảm bảo tính toàn vẹn của tế bào, hoặc tiến hành bước 3 nếu cần nuôi cấy ngay lập tức.
3. Để nuôi cấy ngay lập tức, hãy rã đông ống nghiệm nhanh chóng bằng cách ngâm nó trong bồn nước  $37^{\circ}\text{C}$  với nước sạch và chất kháng khuẩn, khuấy nhẹ trong 40-60 giây cho đến khi còn lại một khối băng nhỏ.
4. Thực hiện tất cả các bước tiếp theo trong điều kiện vô trùng trong tủ hút khí, khử trùng ống cryovial bằng cồn 70% trước khi mở.
5. Mở ống đã khử trùng một cách cẩn thận và chuyển hỗn hợp tế bào vào ống ly tâm 15 ml chứa 8 ml môi trường nuôi cấy ở nhiệt độ phòng, khuấy nhẹ.
6. Ly tâm hỗn hợp ở  $300 \times g$  trong 3 phút để tách tế bào và cẩn thận loại bỏ dịch siêu âm chứa môi trường đông lạnh còn lại.
7. Nhẹ nhàng hòa tan lại khối tế bào trong 10 ml môi trường nuôi cấy tươi. Đối với tế bào bám dính, chia hỗn hợp vào hai bình nuôi cấy T25; đối với tế bào nuôi cấy lơ lửng, chuyển toàn bộ môi trường vào một bình T25 để thúc đẩy tương tác và phát triển tế bào hiệu quả.
8. Tuân thủ các quy trình nuôi cấy con được thiết lập để duy trì sự phát triển và bảo quản dòng tế bào, đảm bảo kết quả thí nghiệm đáng tin cậy.

**Incubation  
Atmosphere**

$37^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , môi trường ẩm.

**Flask Coating**

Không có

**Freezing  
Procedure**

Các dòng tế bào được bảo quản bằng phương pháp đông lạnh được vận chuyển trên đá khô trong bao bì cách nhiệt đã được kiểm định, kèm theo lượng chất làm lạnh đủ để duy trì nhiệt độ khoảng  $-78^{\circ}\text{C}$  trong suốt quá trình vận chuyển. Khi nhận hàng, hãy kiểm tra ngay lập tức bao bì và chuyển các ống nghiệm sang nơi lưu trữ phù hợp mà không chậm trễ.

**Shipping  
Conditions**

Các dòng tế bào được bảo quản bằng phương pháp đông lạnh được vận chuyển trên đá khô trong bao bì cách nhiệt đã được kiểm định, kèm theo lượng chất làm lạnh đủ để duy trì nhiệt độ khoảng  $-78^{\circ}\text{C}$  trong suốt quá trình vận chuyển. Khi nhận hàng, hãy kiểm tra ngay lập tức bao bì và chuyển các ống nghiệm sang nơi lưu trữ phù hợp mà không chậm trễ.

## Tế bào L-WRN | 300641

### Storage Conditions

Để bảo quản lâu dài, hãy đặt ống nghiệm vào nitơ lỏng ở pha hơi ở nhiệt độ khoảng  $-150$  đến  $-196$  °C. Việc bảo quản ở  $-80$  °C chỉ được chấp nhận như một bước trung gian ngắn hạn trước khi chuyển sang nitơ lỏng.

## Kiểm soát chất lượng / Hồ sơ di truyền / HLA

### Sterility

Sự nhiễm khuẩn Mycoplasma được loại trừ bằng cả các phương pháp xét nghiệm dựa trên PCR và các phương pháp phát hiện Mycoplasma dựa trên phát quang.

Để đảm bảo không có nhiễm khuẩn vi khuẩn, nấm hoặc men, các mẫu nuôi cấy tế bào được kiểm tra trực quan hàng ngày.