

L-WRN 小鼠皮下结缔组织细胞

一、细胞简介

细胞简介	L-WRN 是一种从雄性小鼠的乳晕中分离出来的成纤维细胞样细胞。该细胞系是生产 Wnt-3A、R-spondin 3 和可用于培养各种哺乳动物组织干细胞的头蛋白条件培养基的来源。L-WRN 细胞是通过用 R-spondin 3 和 noggin 共表达载体 转染 L-Wnt3A (ATCC® CRL-2647) 获得的，并在含有 G418 和潮霉素 B 的培养基中选择稳定的克隆。L-WRN 细胞将因子 Wnt3A、R-spondin 3 和 noggin 分泌到培养基中。Wnt3A 结合 frizzled 受体家族并激活 β -连环蛋白依赖性转录。r-spondin 蛋白家族的成员是肠道中典型 Wnt 信号传导的有效共激活剂，对于分离小肠干细胞至关重要。Noggin 是一种骨形态发生蛋白 (BMP) 信号抑制剂，能够在体外维持和传递小肠类器官。虽然这三个因素是可商购的，但维持目前使用永生化细胞系的标准测定所需的大规模培养物的成本很高。与用重组蛋白制成的培养基相比，使用来自 CRL-3276 的条件培养基可提供相对完整和高效价的蛋白质，是一种具有成本效益的替代方案。
细胞名称	L-WRN (小鼠皮下结缔组织细胞)
细胞别称	L-Wnt3a/R-spondin/Noggin
细胞货号	Delf-17114
来源	C3H; 皮下结缔组织; 脂肪; 乳晕
形态特性	成纤维细胞样，贴壁生长
细胞鉴定	提供种属鉴定
培养条件	1、 DMEM 培养基 (货号: Delf-16563) ; 2、 优质胎牛血清+10% (货号: Delf-11405) ; 3、 P/S 青霉素-链霉素+1% (货号: Delf-15487) 4、 0.5mg/mL G-418 (货号: Delf-15049) ; 5、 0.5mg/mL hygromycin B(潮霉素 B) (货号: Delf-27180) ;
培养环境	气相: 空气, 95%; 二氧化碳, 5%。温度: 37°C, 培养箱湿度为 70%-80%。

二、细胞复苏方法

复苏步骤	1、将冻存管在 37°C 水浴中迅速摇晃解冻; 2、加入到含 4ml 常规培养基 (含 10%FBS) 的离心管中混合均匀; 3、在 1000RPM 条件下离心 5min, 弃去上清液, 完全培养基 重悬细胞; 4、将细胞悬液加入含 6-8ml 完全培养基的 T25 培养瓶 (或 6cm 皿) 中 37°C 培养箱培养;
------	---

三、细胞传代方法

发表【中文论文】请标注：细胞由合肥万物生物科技有限公司提供

发表【英文论文】请标注：Cells were provided by Hefei Wanwu Biotechnology Co., LTD

发表论文有奖，发稿请联系我们，电话：400-1016-218



传代比例	1:2 (具体情况视细胞生长速度及密度决定)
传代方法	1、尽量吸干净 T25 瓶原培养基; 2、用不含钙、镁离子的 PBS 润洗细胞 1 次，吸走润洗的 PBS; 3、加入 0.25% (w/v) 胰蛋白酶-0.53 mM EDTA 于培养瓶中 (T25 瓶 1-2mL, T75 瓶 2-3mL); 4、将培养瓶放入 37 度培养箱消化 2min 左右 (不同胰酶，消化时间不同，要根据细胞脱落情况，在进行终止消化); 5、轻轻侧拍 T25 培养瓶镜下观察，消化到细胞脱落在胰酶当中后，加入 2-3ml 含 10%FBS 的常规培养基终止消化; 6、1000rpm 离心 5min，收集到 15ml 离心管中加 2ml 该细胞完全培养基，重悬细胞时，在离心管中轻轻吹打，把细胞混匀; 7、按 1:2 分配到新的 T25 培养瓶中，添加 4-5ml 完全培养基放回 37℃ 培养箱;
注意事项	不同品牌胰酶消化时间差别较大，可根据细胞形态判断消化进程
四、细胞冻存方法	
冻存液配方	冻存液：90%血清，10%DMSO，现用现配（推荐使用 DELF 无血清非程序细胞冻存液 Delf-16090 进行冻存细胞，快速，便捷）。
冻存规格	按每 1ml 冻存液含 $1 \times 10^6 \sim 1 \times 10^7$ 个活细胞/ml 分配到一个冻存管中将细胞分配到冻存管中，标注好名称、代数、日期等信息。
冻存方法	1、消化并离心收集细胞，计数，推荐冻存密度为 $1 \times 10^6 \sim 1 \times 10^7$ 个活细胞/ml; 2、将细胞悬液尽快移入已经做好标记的冻存管; 3、将冻存管转入程序冻存盒，放入-80 度冰箱过夜，第二天转入液氮保存；没有程序冻存盒的实验室，加入细胞后可以将冻存管放在泡沫盒中 4 度静置 5-10min，再-20 度静置 2h 后转入-80 度过夜，第二天转入液氮保存；
五、注意事项	
注意事项	1、所有动物细胞均视为有潜在的生物危害性，必须在二级生物安全台内操作，并请注意防护，所有废液及接触过此细胞的器皿需要灭菌后方能丢弃。 2、建议在复苏冻存细胞时始终使用防护手套、衣服和戴上防护面罩。注意：冻存管浸没在液氮中会泄漏，并会慢慢充满液氮。解冻时，液氮转化成气相可能导致容器爆炸或用危险力吹掉其盖子，从而产生飞扬的碎屑造成人员伤害。 3、本产品仅限于科学研究，绝不可作为动物或人类疾病的治疗产品使用。
细胞培养清除试剂	1、DELF 培养箱水盘除菌剂 (100x) 100ml Delf-28683 2、DELF 水浴锅除菌剂 (1000x) 100ml Delf-28682 3、DELF 细胞污染高效清除剂 (2000×) 500ul Delf-16332 4、DELF 黑胶虫清除试剂 (500x) 400ul Delf-11609 5、DELF 支原体清除试剂 (1000x) 1ml Delf-17027

发表【中文论文】请标注：细胞由合肥万物生物科技有限公司提供

发表【英文论文】请标注：Cells were provided by Hefei Wanwu Biotechnology Co., LTD

发表论文有奖，发稿请联系我们，电话：400-1016-218

