

L Buňky Wnt-3A | 305184**Obecné informace****Description**

Buněčná linie L Wnt-3A je derivátem buněk L, původně odvozených z myších fibroblastů. Tato buněčná linie je speciálně upravena tak, aby stabilně exprimovala protein Wnt-3A, který je kritickou součástí signální dráhy Wnt. Signalizace Wnt je klíčová pro různé vývojové procesy, včetně buněčné proliferace, diferenciace a migrace. Stabilní exprese proteinu Wnt-3A v této buněčné linii z ní činí cenný nástroj pro studium molekulárních mechanismů, které jsou základem těchto biologických procesů, zejména v kontextu výzkumu rakoviny, regenerace tkání a embryonálního vývoje.

Výzkumníci často využívají buněčnou linii L Wnt-3A k produkci podmíněného média bohatého na Wnt-3A, které lze poté použít k aktivaci signalizace Wnt v jiných typech buněk. Toto použití je zvláště přínosné při studiu biologie kmenových buněk a regenerativní medicíny, kde signalizace Wnt hraje klíčovou roli při udržování pluripotence kmenových buněk a podpoře obnovy tkání. Kromě toho tato buněčná linie slouží jako model pro zkoumání dysregulace signalizace Wnt u různých druhů rakoviny, což poskytuje poznatky o potenciálních terapeutických cílech a léčbě.

Vzhledem k robustní a spolehlivé expresi Wnt-3A se buněčná linie L Wnt-3A v laboratořích hojně využívá ke zkoumání účinků signalizace Wnt na různé buněčné procesy. Je nepostradatelným zdrojem informací pro vědce, kteří se snaží odhalit složitost buněčných funkcí zprostředkovaných Wnt a vyvinout nové strategie pro modulaci této dráhy v kontextu onemocnění.

Organism Myš**Tissue** Podkožní pojivová tkáň, areolární a tuková tkáň**Synonyms** L-Wnt-3A, L-Wnt3A, LWnt3A, LWnt-3A**Charakteristika****Breed/Subspecies** C3H/An**Age** 100 dní**Gender** Muži**Morphology** Fibroblasty**Growth properties** Adherentní**Regulační údaje****Citation** L Wnt-3A (katalogové číslo Cytion 305184)

L Buňky Wnt-3A | 305184**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 10090**CellosaurusAccession** CVCL_0635**GMO Status** GMO-S1: Tato myší linie odvozená z L-buněk (L Wnt-3A) obsahuje expresní konstrukt Wnt3a pod kontrolou promotoru PGK s rezistencí na neomycin, který umožňuje sekreci Wnt3a. Vložka je stabilně integrována do L-buněk. Tato klasifikace platí pouze v Německu a jinde se může lišit.**Biomolekulární data****Protein expression** Wnt-3A**Zpracování****Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/l glukózy, w: 4 mM L-glutaminu, w: 3,7 g/l NaHCO₃, w: 1,0 mM pyruvátu sodného (číslo výrobku Cytion 820300a)**Supplements** Doplňte médium 10% FBS, 0,4 mg/ml G-418**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Odstraňte staré médium z adherovaných buněk a promyjte je PBS bez vápníku a hořčíku. Pro baňky T25 použijte 3-5 ml PBS a pro baňky T75 5-10 ml. Poté buňky zcela zakryjte přípravkem Accutase, přičemž použijte 1-2 ml pro baňky T25 a 2,5 ml pro baňky T75. Nechte buňky inkubovat při pokojové teplotě po dobu 8-10 minut, aby se oddělily. Po inkubaci jemně promíchejte buňky s 10 ml média, aby byly znovu suspendovány, a poté je odstředte při 300xg po dobu 3 minut. Supernatant vyhodte, buňky znovu rozpusťte v čerstvém médiu a přeneste je do nových baněk, které již obsahují čerstvé médium.**Split ratio** 1:2 až 1:4**Fluid renewal** 2 až 3krát týdně**Freeze medium** Jako kryokonzervační médium používáme kompletní růstové médium (včetně FBS) + 10 % DMSO pro zajištění dostatečné životaschopnosti po rozmrazení nebo CM-1 (katalogové číslo 800100 společnosti Cytion), které obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory pro zlepšení regenerace a snížení stresu způsobeného kryo.

L Buňky Wnt-3A | 305184**Thawing and
Culturing Cells**

1. Ověřte si, že lahvička zůstane při dodání hluboce zmrazená, protože buňky se přepravují na suchém ledu, aby se během přepravy udržely optimální teploty.
2. Po obdržení kryovialku buď okamžitě uložte při teplotě nižší než -150 °C, abyste zajistili zachování buněčné integrity, nebo přejděte ke kroku 3, pokud je nutná okamžitá kultivace.
3. Pro okamžitou kultivaci rychle rozmrazte lahvičku ponořením do vodní lázně o teplotě 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálním prostředkem a jemně ji míchejte po dobu 40-60 sekund, dokud nezůstane malý ledový chuchvalec.
4. Všechny další kroky provádějte za sterilních podmínek v průtokové digestoři a před otevřením kryovialku dezinfikujte 70% ethanolem.
5. Opatrně otevřete dezinfikovanou lahvičku a přeneste buněčnou suspenzi do 15 ml centrifugační zkumavky obsahující 8 ml kultivačního média o pokojové teplotě a jemně promíchejte.
6. Směs odstředujte při 300 x g po dobu 3 minut, aby se buňky oddělily, a supernatant obsahující zbytky mrazicího média opatrně zlikvidujte.
7. Pelety buněk jemně resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačního média. U adherentních buněk rozdělte suspenzi mezi dvě kultivační baňky T25; u suspenzních kultur přeneste veškeré médium do jedné baňky T25, abyste podpořili účinnou interakci a růst buněk.
8. Dodržujte zavedené subkultivační protokoly pro kontinuální růst a udržování buněčné linie, čímž zajistíte spolehlivé výsledky experimentů.

**Incubation
Atmosphere**

37 °C, 5 % CO_2 , zvlhčená atmosféra.

Flask Coating

Žádný

**Freezing
Procedure**

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

**Shipping
Conditions**

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

L Buňky Wnt-3A | 305184

Storage Conditions

Pro dlouhodobé uchování umístěte lahvičky do kapalného dusíku v plynné fázi při teplotě přibližně -150 až -196 °C. Skladování při -80 °C je přijatelné pouze jako krátký přechodný krok před přemístěním do kapalného dusíku.

Kontrola kvality / Genetický profil / HLA

Sterility

Kontaminace mykoplazmaty je vyloučena jak pomocí testů založených na PCR, tak pomocí luminiscenčních metod detekce mykoplazmy.

Aby se zajistilo, že nedojde ke kontaminaci bakteriemi, plísněmi nebo kvasinkami, jsou buněčné kultury denně podrobovány vizuálním kontrolám.