

L Κύτταρα Wnt-3A | 305184

Γενικές πληροφορίες

Description

Η κυτταρική σειρά L Wnt-3A είναι παράγωγο των κυττάρων L, τα οποία προέρχονται αρχικά από ινοβλαστικά κύτταρα ποντικού. Αυτή η κυτταρική σειρά είναι ειδικά κατασκευασμένη ώστε να εκφράζει σταθερά την πρωτεΐνη Wnt-3A, ένα κρίσιμο συστατικό του σηματοδοτικού μονοπατιού Wnt. Η σηματοδότηση Wnt είναι ζωτικής σημασίας για διάφορες αναπτυξιακές διαδικασίες, συμπεριλαμβανομένου του κυτταρικού πολλαπλασιασμού, της διαφοροποίησης και της μετανάστευσης. Η σταθερή έκφραση της Wnt-3A σε αυτή την κυτταρική σειρά την καθιστά πολύτιμο εργαλείο για τη μελέτη των μοριακών μηχανισμών που διέπουν αυτές τις βιολογικές διεργασίες, ιδίως στο πλαίσιο της έρευνας του καρκίνου, της αναγέννησης των ιστών και της εμβρυϊκής ανάπτυξης.

Οι ερευνητές χρησιμοποιούν συχνά την κυτταρική σειρά L Wnt-3A για την παραγωγή εξαρτημένου μέσου πλούσιου σε Wnt-3A, το οποίο μπορεί στη συνέχεια να χρησιμοποιηθεί για την ενεργοποίηση της σηματοδότησης Wnt σε άλλους κυτταρικούς τύπους. Η εφαρμογή αυτή είναι ιδιαίτερα επωφελής στη μελέτη της βιολογίας των βλαστικών κυττάρων και της αναγεννητικής ιατρικής, όπου η σηματοδότηση Wnt διαδραματίζει καθοριστικό ρόλο στη διατήρηση της πολυδυναμίας των βλαστικών κυττάρων και στην προώθηση της επιδιόρθωσης των ιστών. Επιπλέον, η κυτταρική σειρά χρησιμεύει ως μοντέλο για τη διερεύνηση της απορρύθμισης της σηματοδότησης Wnt σε διάφορους καρκίνους, παρέχοντας πληροφορίες για πιθανούς θεραπευτικούς στόχους και θεραπείες.

Λόγω της ισχυρής και αξιόπιστης έκφρασης του Wnt-3A, η κυτταρική σειρά L Wnt-3A χρησιμοποιείται ευρέως στα εργαστήρια για τη διερεύνηση των επιδράσεων της σηματοδότησης Wnt σε διάφορες κυτταρικές διεργασίες. Αποτελεί απαραίτητο πόρο για τους επιστήμονες που στοχεύουν στην αποκάλυψη της πολυπλοκότητας των κυτταρικών λειτουργιών που διαμεσολαβούνται από τον Wnt και στην ανάπτυξη νέων στρατηγικών για τη διαμόρφωση αυτού του μονοπατιού σε πλαίσια ασθενειών.

Organism Ποντίκι

Tissue Υποδόριος συνδετικός ιστός, αρεοειδής και λιπώδης

Synonyms L-Wnt-3A, L-Wnt3A, LWnt3A, LWnt-3A

Χαρακτηριστικά

Breed/Subspecies C3H/An

Age 100 ημέρες

Gender Άντρας

Morphology Ινοβλάστες

Growth properties Προσκολλημένο

L Κύτταρα Wnt-3A | 305184

Ρυθμιστικά δεδομένα

Citation	L Wnt-3A (αριθμός καταλόγου Cytion 305184)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	10090
CellosaurusAccession	CVCL_0635
GMO Status	GMO-S1: Αυτή η σειρά που προέρχεται από L-κύτταρα ποντικού (L Wnt-3A) περιέχει ένα κατασκευάσμα έκφρασης Wnt3a υπό τον έλεγχο του προαγωγού PGK με ανοχή στη νεομυκίνη, επιτρέποντας την έκκριση του Wnt3a. Το ένθετο είναι σταθερά ενσωματωμένο στα L-κύτταρα. Αυτή η ταξινόμηση ισχύει μόνο εντός της Γερμανίας και ενδέχεται να διαφέρει σε άλλες χώρες.

Βιομοριακά δεδομένα

Protein expression	Wnt-3A
---------------------------	--------

Χειρισμός

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/L γλυκόζη, w: 4 mM L-γλουταμίνη, w: 3,7 g/L NaHCO ₃ , w: 1,0 mM πυρουβικό νάτριο (αριθμός άρθρου Cytion 820300a)
Supplements	Συμπληρώστε το μέσο με 10% FBS, 0,4 mg/mL G-418
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Αφαιρέστε το παλιό μέσο από τα προσκολλημένα κύτταρα και πλύντε τα με PBS που δεν περιέχει ασβέστιο και μαγνήσιο. Για φιάλες T25, χρησιμοποιήστε 3-5 ml PBS και για φιάλες T75, χρησιμοποιήστε 5-10 ml. Στη συνέχεια, καλύψτε πλήρως τα κύτταρα με Accutase, χρησιμοποιώντας 1-2 ml για φιάλες T25 και 2,5 ml για φιάλες T75. Αφήστε τα κύτταρα να επωαστούν σε θερμοκρασία δωματίου για 8-10 λεπτά για να αποκολληθούν. Μετά την επώαση, αναμείξτε απαλά τα κύτταρα με 10 ml μέσου για να ανασυσταθούν και, στη συνέχεια, φυγοκεντρίστε στα 300xg για 3 λεπτά. Απορρίψτε το υπερκείμενο υγρό, ανασυστάστε τα κύτταρα σε φρέσκο μέσο και μεταφέρετέ τα σε νέες φιάλες που περιέχουν ήδη φρέσκο μέσο.
Fluid renewal	2 έως 3 φορές την εβδομάδα

L Κύτταρα Wnt-3A | 305184**Freeze medium**

Ως μέσο κρυοσυντήρησης, χρησιμοποιούμε πλήρες μέσο ανάπτυξης (συμπεριλαμβανομένου του FBS) + 10% DMSO για επαρκή βιωσιμότητα μετά την απόψυξη, ή CM-1 (αριθμός καταλόγου Cytion 800100), το οποίο περιλαμβάνει βελτιστοποιημένα ωσμοπροστατευτικά και μεταβολικούς σταθεροποιητές για την ενίσχυση της ανάκαμψης και τη μείωση του στρες που προκαλείται από την κρυοσυντήρηση.

Thawing and Culturing Cells

1. Επιβεβαιώστε ότι το φιαλίδιο παραμένει βαθιά παγωμένο κατά την παράδοση, καθώς τα κύτταρα αποστέλλονται σε ξηρό πάγο για να διατηρούνται οι βέλτιστες θερμοκρασίες κατά τη μεταφορά.
2. Κατά την παραλαβή, είτε αποθηκεύστε το κρυοφιαλίδιο αμέσως σε θερμοκρασίες κάτω των -150°C για να διασφαλίσετε τη διατήρηση της κυτταρικής ακεραιότητας, είτε προχωρήστε στο βήμα 3 εάν απαιτείται άμεση καλλιέργεια.
3. Για άμεση καλλιέργεια, αποψύξτε γρήγορα το φιαλίδιο βυθίζοντάς το σε υδατόλουτρο 37°C με καθαρό νερό και αντιμικροβιακό παράγοντα, αναδεύοντας απαλά για 40-60 δευτερόλεπτα μέχρι να παραμείνει ένα μικρό σβόλο πάγου.
4. Εκτελέστε όλα τα επόμενα βήματα υπό αποστειρωμένες συνθήκες σε απορροφητήρα ροής, απολυμαίνοντας το κρυοφιαλίδιο με 70% αιθανόλη πριν από το άνοιγμα.
5. Ανοίξτε προσεκτικά το απολυμασμένο φιαλίδιο και μεταφέρετε το εναιώρημα των κυττάρων σε ένα σωληνάριο φυγοκέντρησης των 15 ml που περιέχει 8 ml θρεπτικού μέσου καλλιέργειας σε θερμοκρασία δωματίου, αναμειγνύοντας απαλά.
6. Φυγοκεντρίστε το μείγμα στα $300 \times g$ για 3 λεπτά για να διαχωριστούν τα κύτταρα και απορρίψτε προσεκτικά το υπερκείμενο που περιέχει το υπόλοιπο μέσο κατάψυξης.
7. Επανασυσσωματώστε απαλά το κυτταρικό σφαιρίδιο σε 10 ml φρέσκου μέσου καλλιέργειας. Για προσκολλημένα κύτταρα, μοιράστε το εναιώρημα σε δύο φιάλες καλλιέργειας T25- για καλλιέργειες εναιωρήματος, μεταφέρετε όλο το μέσο σε μία φιάλη T25 για να προωθήσετε την αποτελεσματική αλληλεπίδραση και ανάπτυξη των κυττάρων.
8. Τηρείτε τα καθιερωμένα πρωτόκολλα υποκαλλιέργειας για τη συνεχή ανάπτυξη και διατήρηση της κυτταρικής σειράς, εξασφαλίζοντας αξιόπιστα πειραματικά αποτελέσματα.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , υγραποιημένη ατμόσφαιρα.

Flask Coating

Για βέλτιστη προσκόλληση και βιωσιμότητα μετά την απόψυξη, συνιστούμε τη χρήση **φιαλών ή πλακών με επικάλυψη κολλαγόνου**.

L Κύτταρα Wnt-3A | 305184

Freezing Procedure

Οι κρυοσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των -78°C καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.

Shipping Conditions

Οι κρυοσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των -78°C καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.

Storage Conditions

Για μακροχρόνια συντήρηση, τοποθετήστε τα φιαλίδια σε υγρό άζωτο σε φάση ατμών σε θερμοκρασία περίπου -150 έως -196°C . Η αποθήκευση στους -80°C είναι αποδεκτή μόνο ως σύντομο ενδιάμεσο βήμα πριν από τη μεταφορά σε υγρό άζωτο.

Ποιοτικός έλεγχος / Γενετικό προφίλ / HLA

Sterility

Η μόλυνση από μυκόπλασμα αποκλείεται με τη χρήση τόσο των δοκιμασιών που βασίζονται στην PCR όσο και των μεθόδων ανίχνευσης μυκοπλάσματος με βάση τη φωταύγεια.

Για να διασφαλιστεί ότι δεν υπάρχει μόλυνση από βακτήρια, μύκητες ή ζύμες, οι κυτταροκαλλιέργειες υποβάλλονται σε καθημερινές οπτικές επιθεωρήσεις.