

L Wnt-3A rakud | 305184**Üldine teave****Description**

L Wnt-3A rakuliin on L-rakkude derivaat, mis on algselt saadud hiire fibroblastide rakkudest. See rakuliin on spetsiaalselt konstrueeritud nii, et see ekspresseerib stabiilselt Wnt-3A valku, mis on Wnt-signaaltee kriitiline komponent. Wnt-signalisatsioon on oluline mitmesuguste arenguprotsesside, sealhulgas rakkude proliferatsiooni, diferentseerumise ja migratsiooni jaoks. Wnt-3A stabiilne ekspressioon selles rakuliinis muudab selle väärtuslikuks vahendiks nende bioloogiliste protsesside aluseks olevate molekulaarsete mehhanismide uurimiseks, eelkõige vähiuuringute, kudede regenereerimise ja embrüonaalse arengu kontekstis.

Teadlased kasutavad L Wnt-3A rakuliini sageli Wnt-3A-rikka konditsioneeritud keskkonna tootmiseks, mida saab seejärel kasutada Wnt-signaali aktiveerimiseks teistes rakutüüpides. See rakendus on eriti kasulik tüvirakkude bioloogia ja regeneratiivse meditsiini uurimisel, kus Wnt-signalisatsioonil on keskne roll tüvirakkude pluripotentsuse säilitamisel ja kudede taastumise edendamisel. Lisaks on rakuliin mudeliks Wnt-signalisatsiooni düsregulatsiooni uurimiseks erinevate vähivormide puhul, mis annab ülevaate potentsiaalsetest terapeutilistest sihtmärkidest ja ravimeetoditest.

Tänu Wnt-3A tugevale ja usaldusväärsele ekspressioonile kasutatakse L Wnt-3A rakuliini laialdaselt laborites, et uurida Wnt-signalisatsiooni mõju erinevatele rakuprotsessidele. See on asendamatu ressurss teadlastele, kelle eesmärk on selgitada Wnt-vahendatud rakufunktsioonide keerukust ja töötada välja uusi strateegiaid selle raja moduleerimiseks haiguste kontekstis.

Organism	Hiir
Tissue	Nahaalne sidekude, areolaarne ja rasvkude
Synonyms	L-Wnt-3A, L-Wnt3A, LWnt3A, LWnt-3A, LWnt-3A

Omadused

Breed/Subspecies	C3H/An
Age	100 päeva
Gender	Mees
Morphology	Fibroblastide
Growth properties	Kinnipeetav

Regulatiivsed andmed

Citation	L Wnt-3A (Cytioni katalooginumber 305184)
-----------------	---

L Wnt-3A rakud | 305184**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 10090**CellosaurusAccession** CVCL_0635**GMO Status** GMO-S1: See hiire L-rakkudest saadud liin (L Wnt-3A) sisaldab Wnt3a ekspressioonikonstrukti PGK promootori kontrolli all koos neomütsiiniresistentsusega, mis võimaldab Wnt3a sekretsiooni. Insert on stabiilselt integreeritud L-rakkudesse. See klassifikatsioon kehtib ainult Saksamaal ja võib mujal erineda.**Biomolekulaarsed andmed****Protein expression** Wnt-3A**Töötlemine****Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/L glükoosi, w: 4 mM L-glutamiini, w: 3,7 g/L NaHCO₃, w: 1,0 mM naatriumpüruvaati (Cytioni artikli number 820300a)**Supplements** Täiendada söötme 10% FBS, 0,4 mg/ml G-418-ga**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Eemaldage kleepunud rakkudelt vana söötme ja peske neid PBS-ga, milles puudub kaltsium ja magneesium. T25 kolbide puhul kasutage 3-5 ml PBS-i ja T75 kolbide puhul 5-10 ml. Seejärel katke rakud täielikult Accutase'iga, kasutades 1-2 ml T25 kolbide puhul ja 2,5 ml T75 kolbide puhul. Laske rakkudel inkubeerida 8-10 minutit toatemperatuuril, et need eralduksid. Pärast inkubeerimist segage rakud ettevaatlikult 10 ml söötmega, et neid resuspenseerida, seejärel tsentrifugeerige 3 minutit 300xg juures. Visake supernatant ära, suspenseerige rakud uuesti värskes keskkonnas ja viige need uutesse kolvidesse, mis sisaldavad juba värsket keskkonda.**Fluid renewal** 2 kuni 3 korda nädalas**Freeze medium** Krüosäilitusvedelikusena kasutame täielikku kasvukeskkonda (sh FBS) + 10% DMSO, et tagada piisav elujõulisus pärast sulatamist, või CM-1 (Cytioni katalooginumber 800100), mis sisaldab optimeeritud osmoprotektante ja metaboolseid stabilisaatoreid, et parandada taastumist ja vähendada krüostressi.

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

1. Veenduge, et vial jääb tarnimisel sügavkülmutatud, sest rakud transporditakse kuiva jääga, et säilitada optimaalne temperatuur transpordi ajal.
2. Pärast kättesaamist säilitage krüoviaal kas kohe temperatuuril alla $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, et tagada rakkude terviklikkuse säilimine, või jätkake sammuga 3, kui on vaja koheselt kultiveerida.
3. Kohese kultiveerimise korral sulatage viali kiiresti, kastes selle $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ veevanni puhta vee ja antimikroobse ainega, segades seda õrnalt 40-60 sekundit, kuni alles jääb väike jääklomp.
4. Tehke kõik järgmised toimingud steriilsetes tingimustes vooluhoodis, desinfitseerides krüoviaal enne avamist 70% etanooliga.
5. Avage desinfitseeritud viali ettevaatlikult ja viige raku suspensioon ettevaatlikult segades 15 ml tsentrifuugitorusse, mis sisaldab 8 ml toatemperatuuril olevat kasvukeskkonda.
6. Rakkude eraldamiseks tsentrifuugige segu $300 \times g$ juures 3 minutit ja visake ülejäänud külmutusvedelikku sisaldav supernatant ettevaatlikult ära.
7. Resuspendeerige rakupellet ettevaatlikult 10 ml värskes kasvukeskkonnas. Adhereerivate rakkude puhul jagage suspensioon kahe T25 kultuurkolvi vahel; suspensioonikultuuride puhul kandke kogu söötme keskkond ühte T25 kolbi, et soodustada rakkude tõhusat koostoimet ja kasvu.
8. Järgige kehtestatud subkultuuriprotokolle rakuliini jätkuvaks kasvuks ja säilitamiseks, tagades usaldusväärsed katsetulemused.

**Incubation
Atmosphere**

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , niisutatud atmosfäär.

Flask Coating

Puudub

**Freezing
Procedure**

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

**Shipping
Conditions**

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

L Wnt-3A rakud | 305184

Storage Conditions

Pikaajaliseks säilitamiseks asetage viaalid aurufaasis vedela lämmastikuga umbes -150 kuni -196 °C juures. Säilitamine temperatuuril -80 °C on vastuvõetav ainult lühikese vaheetapina enne vedela lämmastikuga üleviimist.

Kvaliteedikontroll / Geneetiline profiil / HLA

Sterility

Mükoplasmakontaminatsioon on välistatud nii PCR-põhiste analüüside kui ka luminesentsil põhinevate mükoplasma tuvastamise meetodite abil.

Bakteriaalse, seene- või pärmsaaste puudumise tagamiseks kontrollitakse rakukultuure iga päev visuaalselt.