

**L Wnt-3A-solut | 305184****Yleisiä tietoja****Description**

L Wnt-3A-solulinja on alun perin hiiren fibroblastisoluista peräisin olevien L-solujen johdannainen. Tämä solulinja on erityisesti suunniteltu ilmentämään vakaasti Wnt-3A-proteiinia, joka on Wnt-signaalintireitin kriittinen komponentti. Wnt-signaali on ratkaisevan tärkeää erilaisille kehitysprosesseille, kuten solujen proliferaatiolle, erilaistumiselle ja migraatiolle. Wnt-3A:n vakaa ilmentyminen tässä solulinjassa tekee siitä arvokkaan välineen näiden biologisten prosessien taustalla olevien molekyylimekanismien tutkimiseen erityisesti syöpätutkimuksen, kudosten regeneraation ja alkionkehityksen yhteydessä.

Tutkijat käyttävät usein L Wnt-3A-solulinjaa tuottaakseen runsaasti Wnt-3A:ta sisältävää ehdollistettua väliaineita, joita voidaan sitten käyttää Wnt-signalisaation aktivoimiseen muissa solutyypeissä. Tämä sovellus on erityisen hyödyllinen kantasolubiologian ja regeneratiivisen lääketieteen tutkimuksessa, jossa Wnt-signaali on keskeisessä asemassa kantasolujen pluripotenssin ylläpitämisessä ja kudosten korjautumisen edistämässä. Lisäksi solulinja toimii mallina, jolla tutkitaan Wnt-signaalin säätelyhäiriötä erilaisissa syövässä, mikä antaa tietoa mahdollisista terapeuttisista kohteista ja hoidoista.

Wnt-3A:n vankan ja luotettavan ilmentymisen ansiosta L Wnt-3A-solulinjaa käytetään laajalti laboratorioissa, joissa tutkitaan Wnt-signaalin vaikutuksia erilaisiin soluprosesseihin. Se on korvaamaton resurssi tutkijoille, jotka pyrkivät selvittämään Wnt-välitteisten solutoimintojen monimutkaisuutta ja kehittämään uusia strategioita tämän reitin moduloimiseksi sairauksien yhteydessä.

<b>Organism</b>	Hiiri
<b>Tissue</b>	Ihonalainen sidekudos, areolaarinen ja rasvakudos
<b>Synonyms</b>	L-Wnt-3A, L-Wnt3A, LWnt3A, LWnt-3A, LWnt-3A

**Ominaisuudet**

<b>Breed/Subspecies</b>	C3H/An
<b>Age</b>	100 päivää
<b>Gender</b>	Mies
<b>Morphology</b>	Fibroblastit
<b>Growth properties</b>	Tarttuva

**Säätelytiedot**

<b>Citation</b>	L Wnt-3A (Cytionin luettelonumero 305184)
-----------------	---

**L Wnt-3A-solut | 305184****Biosafety level** 1**NCBI\_TaxID** 10090**CellosaurusAccession** CVCL\_0635**GMO Status** GMO-S1: Tämä hiiren L-soluista peräisin oleva linja (L Wnt-3A) sisältää Wnt3a-ilmentymiskonstruktiin PGK-promootorin ohjauksessa ja neomysiiniresistenssin, mikä mahdollistaa Wnt3a:n erityksen. Insert on integroitu vakaasti L-soluille. Tämä luokitus koskee vain Saksaa ja voi olla erilainen muualla.**Biomolekyylitiedot****Protein expression** Wnt-3A**Käsittely****Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/l glukoosia, w: 4 mM L-glutamiinia, w: 3,7 g/l NaHCO<sub>3</sub>, w: 1,0 mM natriumpyruvaattia (Cytionin artikkelinumero 820300a)**Supplements** Täydennetään elatusainetta 10 % FBS:llä, 0,4 mg/ml G-418:lla**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Poista vanha väliaine tarttuneista soluista ja pese ne PBS:llä, josta puuttuu kalsiumia ja magnesiumia. Käytä T25-pulloissa 3-5 ml PBS:ää ja T75-pulloissa 5-10 ml. Peitä sitten solut kokonaan Accutase-valmisteella, käyttäen 1-2 ml T25-pulloissa ja 2,5 ml T75-pulloissa. Anna solujen inkuboitua huoneenlämmössä 8-10 minuuttia solujen irtoamiseksi. Inkuboinnin jälkeen solut sekoitetaan varovasti 10 ml:n väliaineella niiden resuspendoimiseksi ja sentrifugoidaan sitten 300xg:n nopeudella 3 minuutin ajan. Hävitä supernatantti, suspendoi solut uudelleen tuoreessa väliaineessa ja siirrä ne uusiin pulloihin, jotka sisältävät jo tuoretta väliaineita.**Fluid renewal** 2-3 kertaa viikossa**Freeze medium** Kryosäilytysmediana käytämme täydellistä kasvualustaa (mukaan lukien FBS) + 10 % DMSO:ta riittävän sulatuksen jälkeisen elinkelpoisuuden varmistamiseksi tai CM-1:tä (Cytionin luettelonumero 800100), joka sisältää optimoituja osmoprotectantteja ja metabolisia stabilisaattoreita, jotka parantavat elpymistä ja vähentävät kryosäilytyksen aiheuttamaa stressiä.

## L Wnt-3A-solut | 305184

### Thawing and Culturing Cells

1. Varmista, että injektiopullo pysyy syväjäädetyttynä toimitettaessa, sillä solut kuljetetaan kuivajäädessä, jotta optimaalinen lämpötila säilyy kuljetuksen aikana.
2. Vastaanottaessa kryopullo joko säilytetään välittömästi alle  $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ :n lämpötilassa solujen eheyden säilyttämiseksi tai edetään vaiheeseen 3, jos tarvitaan välitöntä viljelyä.
3. Välitöntä viljelyä varten sulata injektiopullo nopeasti upottamalla se  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ :n vesihauteeseen, jossa on puhdasta vettä ja antimikrobista ainetta, ja sekoittamalla sitä varovasti 40-60 sekunnin ajan, kunnes jäädästä on jäljellä pieni jäämöhkäle.
4. Suorita kaikki seuraavat vaiheet steriileissä olosuhteissa virtaushupussa ja desinfioi kryopullo 70-prosenttisellä etanolilla ennen avaamista.
5. Avaa desinfioitu injektiopullo varovasti ja siirrä solususpensio 15 ml:n sentrifugiputkeen, joka sisältää 8 ml huoneenlämpöistä elatusainetta, varovasti sekoittaen.
6. Sentrifugoi seosta  $300 \times g$ :n voimakkuudella 3 minuutin ajan solujen erottamiseksi ja hävitä varovasti supernatantti, joka sisältää jäännöspakastusmediumia.
7. Suspendoidaan solupelletti varovasti uudelleen 10 ml:aan tuoretta elatusainetta. Jos solut ovat tarttuvia, jaa suspensio kahden T25-kolvin kesken; jos kyseessä ovat suspensioviljelmät, siirrä kaikki väliaine yhteen T25-kolviin solujen tehokkaan vuorovaikutuksen ja kasvun edistämiseksi.
8. Noudata vakiintuneita aliviljelyprotokollia solulinjan jatkuvan kasvun ja ylläpidon varmistamiseksi ja luotettavien kokeellisten tulosten varmistamiseksi.

### Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$ , 5 %  $\text{CO}_2$ , kostutettu ilmakehä.

### Flask Coating

Ei mitään

### Freezing Procedure

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäädessä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ :ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

### Shipping Conditions

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäädessä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ :ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

## L Wnt-3A-solut | 305184

### Storage Conditions

Pitkäaikaisäilytystä varten injektiopullot asetetaan höyryfaasissa olevaan nestemäiseen tyypeen noin -150 - -196 °C:een. Säilytys -80 °C:ssa on hyväksyttävää vain lyhyenä välivaiheena ennen siirtoa nestemäiseen tyypeen.

## Laadunvalvonta / Geneettinen profiili / HLA

### Sterility

Mykoplasmakontaminaatio suljetaan pois sekä PCR-pohjaisilla määrittelyillä että luminesenssiin perustuvilla mykoplasman osoitusmenetelmillä.

Bakteeri-, sieni- tai hiivakontaminaation välttämiseksi soluviljelmät tarkastetaan päivittäin silmämääräisesti.