

L Cellule Wnt-3A | 305184**Informazioni generali****Description**

La linea cellulare L Wnt-3A è un derivato delle cellule L, originariamente derivate da fibroblasti di topo. Questa linea cellulare è specificamente ingegnerizzata per esprimere stabilmente la proteina Wnt-3A, un componente critico della via di segnalazione Wnt. La segnalazione Wnt è fondamentale per vari processi di sviluppo, tra cui la proliferazione, la differenziazione e la migrazione cellulare. L'espressione stabile di Wnt-3A in questa linea cellulare la rende uno strumento prezioso per studiare i meccanismi molecolari alla base di questi processi biologici, in particolare nel contesto della ricerca sul cancro, della rigenerazione dei tessuti e dello sviluppo embrionale.

I ricercatori utilizzano spesso la linea cellulare L Wnt-3A per produrre un mezzo condizionato ricco di Wnt-3A, che può essere utilizzato per attivare la segnalazione Wnt in altri tipi di cellule. Questa applicazione è particolarmente utile nello studio della biologia delle cellule staminali e della medicina rigenerativa, dove la segnalazione di Wnt svolge un ruolo fondamentale nel mantenere la pluripotenza delle cellule staminali e nel promuovere la riparazione dei tessuti. Inoltre, la linea cellulare serve come modello per studiare la disregolazione della segnalazione Wnt in vari tipi di cancro, fornendo indicazioni su potenziali bersagli terapeutici e trattamenti.

Grazie all'espressione robusta e affidabile di Wnt-3A, la linea cellulare L Wnt-3A è ampiamente utilizzata nei laboratori per esplorare gli effetti della segnalazione Wnt su diversi processi cellulari. È una risorsa indispensabile per gli scienziati che mirano a svelare le complessità delle funzioni cellulari mediate da Wnt e a sviluppare nuove strategie per modulare questa via in contesti patologici.

Organism

Mouse

Tissue

Tessuto connettivo sottocutaneo, areolare e adiposo

Synonyms

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

Caratteristiche**Breed/Subspecies**

C3H/An

Age

100 giorni

Gender

Uomo

Morphology

Fibroblasti

Growth properties

Aderente

Dati normativi

L Cellule Wnt-3A | 305184

Citation	L Wnt-3A (numero di catalogo Cytion 305184)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	10090
CellosaurusAccession	CVCL_0635
GMO Status	GMO-S1: questa linea derivata da cellule L murine (L Wnt-3A) contiene un costrutto di espressione Wnt3a sotto il controllo del promotore PGK con resistenza alla neomicina, che consente la secrezione di Wnt3a. L'inserto è integrato in modo stabile nelle cellule L. Questa classificazione si applica solo in Germania e può differire altrove.

Dati biomolecolari

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

Manipolazione

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/L di glucosio, w: 4 mM di L-Glutammina, w: 3,7 g/L di NaHCO ₃ , w: 1,0 mM di piruvato di sodio (articolo Cytion numero 820300a)
Supplements	Integrare il terreno di coltura con il 10% di FBS, 0,4 mg/mL di G-418
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Rimuovere il vecchio terreno dalle cellule aderenti e lavarle con PBS privo di calcio e magnesio. Per le fiasche T25, utilizzare 3-5 ml di PBS e per le fiasche T75, 5-10 ml. Quindi, coprire completamente le cellule con Accutase, utilizzando 1-2 ml per le fiasche T25 e 2,5 ml per le fiasche T75. Lasciare incubare le cellule a temperatura ambiente per 8-10 minuti per staccarle. Dopo l'incubazione, mescolare delicatamente le cellule con 10 ml di terreno per risospenderle, quindi centrifugare a 300xg per 3 minuti. Scartare il surnatante, risospendere le cellule in terreno fresco e trasferirle in nuove fiasche contenenti terreno fresco.
Split ratio	da 1:2 a 1:4
Fluid renewal	da 2 a 3 volte alla settimana
Freeze medium	Come terreno di crioconservazione, utilizziamo un terreno di crescita completo (incluso FBS) + 10% DMSO per un'adeguata vitalità post-scongelo, o CM-1 (numero di catalogo Cytion 800100), che include osmoprotettori e stabilizzatori metabolici ottimizzati per migliorare il recupero e ridurre lo stress crio-indotto.

L Cellule Wnt-3A | 305184

Thawing and Culturing Cells

1. Verificare che la fiala rimanga profondamente congelata al momento della consegna, poiché le cellule vengono spedite con ghiaccio secco per mantenere le temperature ottimali durante il trasporto.
2. Al ricevimento, conservare immediatamente la criovial a temperature inferiori a -150°C per garantire la conservazione dell'integrità cellulare, oppure procedere al punto 3 se è necessaria una coltura immediata.
3. Per la coltura immediata, scongelare rapidamente la fiala immergendola in un bagno d'acqua a 37°C con acqua pulita e un agente antimicrobico, agitando delicatamente per 40-60 secondi finché non rimane un piccolo grumo di ghiaccio.
4. Eseguire tutte le fasi successive in condizioni di sterilità in una cappa a flusso, disinfettando la criovial con etanolo al 70% prima dell'apertura.
5. Aprire con cautela la fiala disinfettata e trasferire la sospensione cellulare in una provetta da centrifuga da 15 ml contenente 8 ml di terreno di coltura a temperatura ambiente, mescolando delicatamente.
6. Centrifugare la miscela a 300 x g per 3 minuti per separare le cellule e scartare con cura il surnatante contenente il terreno di coltura residuo.
7. Risospendere delicatamente il pellet cellulare in 10 ml di terreno di coltura fresco. Per le cellule aderenti, dividere la sospensione tra due fiasche di coltura T25; per le colture in sospensione, trasferire tutto il terreno in una fiasca T25 per promuovere l'interazione e la crescita delle cellule.
8. Attenersi ai protocolli di subcoltura stabiliti per la crescita e il mantenimento continui della linea cellulare, garantendo risultati sperimentali affidabili.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO₂, atmosfera umidificata.

Flask Coating

Nessuno

Freezing Procedure

Le linee cellulari crioconservate vengono spedite su ghiaccio secco in confezioni isolate e convalidate, con una quantità di refrigerante sufficiente a mantenere circa -78 °C durante il trasporto. Al ricevimento, ispezionare immediatamente il contenitore e trasferire immediatamente le fiale in un luogo di conservazione appropriato.

Shipping Conditions

Le linee cellulari crioconservate vengono spedite su ghiaccio secco in confezioni isolate e convalidate, con una quantità di refrigerante sufficiente a mantenere circa -78 °C durante il trasporto. Al ricevimento, ispezionare immediatamente il contenitore e trasferire immediatamente le fiale in un luogo di conservazione appropriato.

L Cellule Wnt-3A | 305184

Storage Conditions

Per la conservazione a lungo termine, porre le fiale in azoto liquido in fase vapore a una temperatura compresa tra -150 e -196 °C circa. La conservazione a -80 °C è accettabile solo come breve fase intermedia prima del trasferimento in azoto liquido.

Controllo qualità e analisi molecolare

Sterility

La contaminazione da micoplasma viene esclusa utilizzando sia saggi basati sulla PCR sia metodi di rilevamento del micoplasma basati sulla luminescenza.

Per garantire l'assenza di contaminazione batterica, fungina o da lieviti, le colture cellulari sono sottoposte a ispezioni visive quotidiane.