

L Wnt-3A ląstelės | 305184**Bendra informacija****Description**

L Wnt-3A ląstelių linija yra L ląstelių, iš pradžių gautų iš pelių fibroblastų ląstelių, darinys. Ši ląstelių linija specialiai sukurta taip, kad stabiliai ekspresuotų Wnt-3A baltymą - svarbiausią Wnt signalų kelio komponentą. Wnt signalai yra labai svarbūs įvairiems vystymosi procesams, įskaitant ląstelių proliferaciją, diferenciaciją ir migraciją. Stabili Wnt-3A raiška šioje ląstelių linijoje yra vertingas įrankis tiriant šiuos biologinius procesus lemiančius molekulinis mechanizmus, ypač vėžio tyrimų, audinių regeneracijos ir embriono vystymosi kontekste.

Mokslininkai dažnai naudoja L Wnt-3A ląstelių liniją, kad pagamintų sąlyginę terpę, kurioje gausu Wnt-3A, ir kuri vėliau gali būti naudojama Wnt signalams aktyvuoti kitų tipų ląstelėse. Tai ypač naudinga kamieninių ląstelių biologijos ir regeneracinės medicinos tyrimuose, kur Wnt signalas atlieka pagrindinį vaidmenį palaikant kamieninių ląstelių pluripotentiškumą ir skatinant audinių atstatymą. Be to, ši ląstelių linija naudojama kaip modelis Wnt signalų reguliacijos sutrikimams įvairiose vėžio formose tirti, o tai padeda nustatyti galimus terapinius taikinius ir gydymo būdus.

Dėl stiprios ir patikimos Wnt-3A raiškos L Wnt-3A ląstelių linija plačiai naudojama laboratorijose tiriant Wnt signalų poveikį įvairiems ląstelių procesams. Tai nepakeičiamas šaltinis mokslininkams, siekiantiems išsiaiškinti sudėtingas Wnt tarpininkaujamų ląstelių funkcijas ir kurti naujas šio kelio moduliavimo strategijas ligų atvejais.

Organism

Pelė

Tissue

Poodinis jungiamasis audinys, areolinis ir riebalinis audiniai

Synonyms

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

Charakteristikos**Breed/Subspecies**

C3H/An

Age

100 dienų

Gender

Vyras

Morphology

Fibroblastai

Growth properties

Priglundęs

Reguliavimo duomenys**Citation**

L Wnt-3A (Cytion katalogo numeris 305184)

L Wnt-3A ląstelės | 305184**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 10090**CellosaurusAccession** CVCL_0635**GMO Status** GMO-S1: Ši pelės L ląstelių kilmės linija (L Wnt-3A) turi Wnt3a ekspresijos konstrukta, kontroliuojamą PGK promotoriaus, su neomicino atsparumu, leidžiantį Wnt3a sekreciją. Įterptis yra stabiliai integruota į L ląsteles. Ši klasifikacija taikoma tik Vokietijoje ir kitose šalyse gali skirtis.**Biomolekuliniai duomenys****Protein expression** Wnt-3A**Tvarkymas****Culture Medium** DMEM, š: 4,5 g/l gliukozės, š: 4 mM L-glutamino, š: 3,7 g/l NaHCO₃, š: 1,0 mM natrio piruvato (Cytion gaminio numeris 820300a)**Supplements** Papildykite terpę 10 % FBS, 0,4 mg/ml G-418**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Pašalinkite seną terpę nuo prilipusių ląstelių ir nuplaukite jas PBS, kuriame nėra kalcio ir magnio. T25 kolboms naudokite 3-5 ml PBS, o T75 kolboms - 5-10 ml. Tuomet visiškai užpilkite ląsteles "Accutase", naudodami 1-2 ml T25 kolboms ir 2,5 ml T75 kolboms. Leiskite ląstelėms inkubuotis kambario temperatūroje 8-10 minučių, kad jos atsiskirtų. Po inkubacijos atsargiai sumaišykite ląsteles su 10 ml terpės, kad jos vėl suspenduotų, tada 3 minutes centrifuguokite 300xg greičiu. Išmeskite supernatantą, vėl sutirpinkite ląsteles šviežioje terpėje ir perkeltite jas į naujas kolbas, kuriose jau yra šviežia terpė.**Fluid renewal** 2-3 kartus per savaitę**Freeze medium** Kaip kriokonservavimo terpę naudojame visišką augimo terpę (įskaitant FBS) + 10 % DMSO, kad būtų užtikrintas tinkamas gyvybingumas po atšildymo, arba CM-1 (Cytion katalogo numeris 800100), kurioje yra optimizuotų osmoprotektorių ir medžiagų apykaitos stabilizatorių, kad būtų pagerintas atsigavimas ir sumažintas kriokonservavimo sukeltas stresas.

L Wnt-3A ląstelės | 305184

Thawing and Culturing Cells

1. Patikrinkite, ar pristatant buteliuką jis išlieka gerai užšaldytas, nes ląstelės gabenamos ant sauso ledo, kad gabenimo metu būtų palaikoma optimali temperatūra.
2. Gavę iš karto laikykite kriovialą žemesnėje nei -150°C temperatūroje, kad užtikrintumėte ląstelių vientisumo išsaugojimą, arba pereikite prie 3 veiksmo, jei reikia nedelsiant kultivuoti.
3. Jei norite nedelsiant pradėti kultivuoti, greitai atšildykite buteliuką panardindami jį į 37°C temperatūros vandens vonelę su švariu vandeniu ir antimikrobine priemone, švelniai maišydami 40-60 sekundžių, kol liks nedidelis ledo gabalėlis.
4. Visus tolesnius veiksmus atlikite steriliomis sąlygomis srauto gaubte, prieš atidarydami kriovialą dezinfekuokite jį 70 % etanoliu.
5. Atsargiai atidarykite dezinfekuotą buteliuką ir perpilkite ląstelių suspensiją į 15 ml centrifugos mėgintuvėlį, kuriame yra 8 ml kambario temperatūros mitybinės terpės, atsargiai išmaišykite.
6. Mišinį centrifuguokite 300 x g greičiu 3 minutes, kad atsiskirtų ląstelės, ir atsargiai išmeskite supernatantą su šaldymo terpės likučiais.
7. Švelniai resuspenduokite ląstelių granules 10 ml šviežios mitybinės terpės. Jei ląstelės yra prigludusios, suspensiją padalykite į dvi T25 kolbas; jei tai suspensinės kultūros, visą terpę perkelti į vieną T25 kolbą, kad paskatintumėte veiksmingą ląstelių sąveiką ir augimą.
8. Laikykitės nustatytų subkultūrų protokolų, kad ląstelių linija nuolat augtų ir būtų palaikoma, taip užtikrinant patikimus eksperimentų rezultatus.

Incubation Atmosphere

37°C , 5 % CO_2 , drėkintoje atmosferoje.

Flask Coating

Nėra

Freezing Procedure

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug -78°C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelti mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

Shipping Conditions

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug -78°C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelti mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

L Wnt-3A ląstelės | 305184

Storage Conditions

Norėdami ilgai saugoti, įdėkite buteliukus į garų fazės skystą azotą maždaug -150-196 °C temperatūroje.
Laikymas -80 °C temperatūroje yra priimtinas tik kaip trumpas tarpinis etapas prieš perkeliant į skystą azotą.

Kokybės kontrolė / Genetinis profilis / HLA

Sterility

Mikoplazmos užterštumas atmetamas taikant PGR pagrįstus tyrimus ir liuminescencinius mikoplazmos aptikimo metodus.

Siekiant užtikrinti, kad nebūtų užteršimo bakterijomis, grybeliais ar mielėmis, ląstelių kultūros kasdien vizualiai tikrinamos.