

**L Wnt-3A šūnas | 305184****Vispārīga informācija****Description**

L Wnt-3A šūnu līnija ir L šūnu atvasinājums, kas sākotnēji iegūta no peļu fibroblastu šūnām. Šī šūnu līnija ir īpaši izstrādāta, lai stabili ekspresētu Wnt-3A olbaltumvielu, kas ir Wnt signalizācijas ceļa būtiska sastāvdaļa. Wnt signalizācijai ir būtiska nozīme dažādos attīstības procesos, tostarp šūnu proliferācijā, diferenciācijā un migrācijā. Stabīlā Wnt-3A ekspresija šajā šūnu līnijā padara to par vērtīgu instrumentu šo bioloģisko procesu pamatā esošo molekulāro mehānismu izpētei, jo īpaši vēža, audu reģenerācijas un embriju attīstības pētījumu kontekstā.

Pētnieki bieži izmanto L Wnt-3A šūnu līniju, lai iegūtu kondicionētu barotni, kas bagāta ar Wnt-3A, kuru pēc tam var izmantot, lai aktivizētu Wnt signālu citos šūnu tipos. Šis pielietojums ir īpaši noderīgs cilmes šūnu bioloģijas un reģeneratīvās medicīnas pētījumos, kur Wnt signalizācijai ir galvenā loma cilmes šūnu pluripotences uzturēšanā un audu atjaunošanas veicināšanā. Turklāt šūnu līnija kalpo kā modelis, lai pētītu Wnt signalizācijas disregulāciju dažādos vēža veidos, sniedzot ieskatu par potenciālajiem terapeitiskajiem mērķiem un ārstēšanu.

Pateicoties spēcīgai un uzticamai Wnt-3A ekspresijai, L Wnt-3A šūnu līniju plaši izmanto laboratorijās, lai pētītu Wnt signalizācijas ietekmi uz dažādiem šūnu procesiem. Tā ir neaizstājams resurss zinātniekiem, kuru mērķis ir atklāt Wnt mediēto šūnu funkciju sarežģītību un izstrādāt jaunas stratēģijas šī ceļa modulēšanai slimību kontekstā.

**Organism** Pele**Tissue** Zemādas saistaudi, areolārie un taukaudi**Synonyms** L-Wnt-3A, L-Wnt3A, LWnt3A, LWnt-3A**Raksturojums****Breed/Subspecies** C3H/An**Age** 100 dienas**Gender** Vīrieši**Morphology** Fibroblasti**Growth properties** Adherent**Normatīvie dati****Citation** L Wnt-3A (Cytion kataloga numurs 305184)

## L Wnt-3A šūnas | 305184

**Biosafety level** 1**NCBI\_TaxID** 10090**CellosaurusAccession** CVCL\_0635**GMO Status** GMO-S1: Šī no pelēm iegūtā L šūnu līnija (L Wnt-3A) satur Wnt3a ekspresijas konstruktu PGK promotora kontrolē ar neomicīna rezistenci, kas ļauj sekrēt Wnt3a. Ievietojums ir stabili integrēts L šūnās. Šī klasifikācija attiecas tikai uz Vāciju un citās valstīs var atšķirties.**Biomolekulārie dati****Protein expression** Wnt-3A**Darbs ar****Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/l glikozes, w: 4 mM L-glutamīna, w: 3,7 g/l NaHCO<sub>3</sub>, w: 1,0 mM nātrija piruvāta (Cytion izstrādājuma numurs 820300a)**Supplements** Papildiniet barotni ar 10% FBS, 0,4 mg/ml G-418**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Noņem veco barotni no pielipušajām šūnām un mazgāt tās ar PBS, kurā nav kalcija un magnija. T25 kolbām izmantojiet 3-5 ml PBS, bet T75 kolbām - 5-10 ml. Pēc tam pilnībā pārklājiet šūnas ar Accutase, izmantojot 1-2 ml T25 kolbām un 2,5 ml T75 kolbām. Ļaujiet šūnām inkubēties istabas temperatūrā 8-10 minūtes, lai tās atdalītos. Pēc inkubācijas uzmanīgi samaisiet šūnas ar 10 ml barotnes, lai tās atkārtoti suspendētu, pēc tam centrifugējiet 3 minūtes ar 300xg. Izmetiet supernatantu, atkārtoti suspendējiet šūnas svaigā barotnē un pārvietojiet tās jaunās kolbās, kurās jau ir svaiga barotne.**Fluid renewal** 2 līdz 3 reizes nedēļā**Freeze medium** Kā kriokonservēšanas barotni mēs izmantojam pilnvērtīgu augšanas barotni (ieskaitot FBS) + 10 % DMSO, lai nodrošinātu pietiekamu dzīvotspēju pēc atkausēšanas, vai CM-1 (Cytion kataloga numurs 800100), kas ietver optimizētus osmoprotektorus un metaboliskos stabilizatorus, lai uzlabotu atveseļošanos un samazinātu krioinducēto stresu.

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

1. Pārliecinieties, ka pēc piegādes flakons paliek dziļi sasaldēts, jo šūnas tiek sūtītas uz sausā ledus, lai pārvadāšanas laikā saglabātu optimālu temperatūru.
2. Pēc saņemšanas vai nu nekavējoties uzglabāt kriovialu temperatūrā, kas zemāka par -150 °C, lai nodrošinātu šūnu integritātes saglabāšanu, vai arī turpināt 3. posmu, ja nepieciešama tūlītēja kultivēšana.
3. Tūlītējas kultivēšanas gadījumā ātri atkausējiet flakonu, iegremdējot to 37°C ūdens vannā ar tīru ūdeni un antibakteriālu līdzekli, viegli maisot 40-60 sekundes, līdz paliek neliels ledus gabaliņš.
4. Visas turpmākās darbības veiciet sterilos apstākļos plūsmas nosūcējā, pirms atvēršanas dezinficējot kriovialu ar 70% etanolu.
5. Uzmanīgi atveriet dezinficēto flakonu un pārnesiet šūnu suspensiju 15 ml centrifūgas mēģenē, kurā ir 8 ml istabas temperatūras barotnes, uzmanīgi samaisot.
6. Centrifugējiet maisījumu ar 300 x g 3 minūtes, lai atdalītu šūnas, un uzmanīgi izmetiet virskārtu, kas satur saldēšanas barotnes atlikumus.
7. Viegli resuspendēt šūnu granulas 10 ml svaigas barotnes. Adhēzijas šūnu gadījumā suspensiju sadalīt divās T25 kolbās; suspensijas kultūrām visu barotni pārnest vienā T25 kolbā, lai veicinātu efektīvu šūnu mijiedarbību un augšanu.
8. Ievērojiet noteiktos subkultūru protokolus, lai nodrošinātu nepārtrauktu šūnu līnijas augšanu un uzturēšanu, tādējādi nodrošinot uzticamus eksperimentu rezultātus.

**Incubation  
Atmosphere**

37°C, 5%  $\text{CO}_2$ , mitrināta atmosfēra.

**Flask Coating**

Neviens

**Freezing  
Procedure**

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidrums daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

## L Wnt-3A šūnas | 305184

### Shipping Conditions

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidrums daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

### Storage Conditions

Ilgstošai uzglabāšanai flakonus ievietojiet šķidrā slāpekļī ar tvaika fāzi aptuveni -150 līdz -196 °C temperatūrā. Uzglabāšana -80 °C temperatūrā ir pieļaujama tikai kā īss starposms pirms pārvietošanas uz šķidro slāpekli.

## Kvalitātes kontrole / Ģenētiskais profils / HLA

### Sterility

Mikoplazmas piesārņojums tiek izslēgts, izmantojot gan uz PCR balstītus testus, gan uz luminiscenci balstītas mikoplazmas noteikšanas metodes.

Lai pārlicinātos, ka nav baktēriju, sēnīšu vai rauga piesārņojuma, šūnu kultūras katru dienu vizuāli pārbauda.