

L Komórki Wnt-3A | 305184**Informacje ogólne****Description**

Linia komórkowa L Wnt-3A jest pochodną komórek L, pierwotnie pochodzących z mysich komórek fibroblastów. Ta linia komórkowa jest specjalnie zaprojektowana do stabilnej ekspresji białka Wnt-3A, krytycznego składnika szlaku sygnałowego Wnt. Sygnalizacja Wnt ma kluczowe znaczenie dla różnych procesów rozwojowych, w tym proliferacji, różnicowania i migracji komórek. Stabilna ekspresja Wnt-3A w tej linii komórkowej czyni ją cennym narzędziem do badania mechanizmów molekularnych leżących u podstaw tych procesów biologicznych, szczególnie w kontekście badań nad rakiem, regeneracją tkanek i rozwojem embrionalnym.

Naukowcy często wykorzystują linię komórkową L Wnt-3A do produkcji pożywki kondycjonowanej bogatej w Wnt-3A, którą można następnie wykorzystać do aktywacji sygnalizacji Wnt w innych typach komórek. To zastosowanie jest szczególnie korzystne w badaniach nad biologią komórek macierzystych i medycyną regeneracyjną, gdzie sygnalizacja Wnt odgrywa kluczową rolę w utrzymaniu pluripotencji komórek macierzystych i promowaniu naprawy tkanek. Ponadto linia komórkowa służy jako model do badania dysregulacji sygnalizacji Wnt w różnych nowotworach, zapewniając wgląd w potencjalne cele terapeutyczne i metody leczenia.

Ze względu na silną i niezawodną ekspresję Wnt-3A, linia komórkowa L Wnt-3A jest szeroko stosowana w laboratoriach do badania wpływu sygnalizacji Wnt na różne procesy komórkowe. Jest to niezbędne źródło informacji dla naukowców, którzy chcą rozwikłać złożoność funkcji komórkowych, w których pośredniczy Wnt i opracować nowe strategie modulowania tego szlaku w kontekście chorób.

Organism

Mysz

Tissue

Podskórna tkanka łączna, otoczkowa i tłuszczowa

Synonyms

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

Charakterystyka**Breed/Subspecies**

C3H/An

Age

100 dni

Gender

Męczyzna

Morphology

Fibroblast

Growth properties

Adherent

Dane regulacyjne

L Komórki Wnt-3A | 305184

Citation	L Wnt-3A (numer katalogowy Cytion 305184)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	10090
CellosaurusAccession	CVCL_0635
GMO Status	GMO-S1: Ta mysia linia pochodząca z komórek L (L Wnt-3A) zawiera konstrukkt ekspresji Wnt3a pod kontrolą promotora PGK z opornością na neomycynę, umożliwiającą wydzielanie Wnt3a. Wstawka jest stabilnie zintegrowana z komórkami L. Klasyfikacja ta ma zastosowanie wyłącznie w Niemczech i może się różnić w innych krajach.

Dane biomolekularne

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

Obsługa

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/l glukozy, w: 4 mM L-glutaminy, w: 3,7 g/l NaHCO ₃ , w: 1,0 mM pirogronianu sodu (numer artykułu Cytion 820300a)
Supplements	Uzupełnić podłoże 10% FBS, 0,4 mg/ml G-418
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Usuń starą pożywkę z przylegających komórek i przemyj je PBS, który nie zawiera wapnia i magnezu. W przypadku kolb T25 należy użyć 3-5 ml PBS, a w przypadku kolb T75 5-10 ml. Następnie całkowicie pokryj komórki Accutase, używając 1-2 ml dla kolb T25 i 2,5 ml dla kolb T75. Pozwól komórkom inkubować w temperaturze pokojowej przez 8-10 minut, aby je oddzielić. Po inkubacji delikatnie wymieszaj komórki z 10 ml pożywki, aby ponownie je zawiesić, a następnie odwiruj przy 300xg przez 3 minuty. Odrzuć supernatant, ponownie zawiesić komórki w świeżej pożywce i przenieść je do nowych kolb zawierających już świeżą pożywkę.
Split ratio	1:2 do 1:4
Fluid renewal	2 do 3 razy w tygodniu
Freeze medium	Jako pożywki do kriokonserwacji używamy kompletnej pożywki wzrostowej (w tym FBS) + 10% DMSO w celu zapewnienia odpowiedniej żywotności po rozmrożeniu lub CM-1 (numer katalogowy Cytion 800100), która zawiera zoptymalizowane osmoprotektanty i stabilizatory metaboliczne w celu zwiększenia regeneracji i zmniejszenia stresu wywołanego kriokonserwacją.

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

1. Upewnij się, że fiolka pozostaje głęboko zamrożona w momencie dostawy, ponieważ komórki są wysyłane w suchym lodzie, aby utrzymać optymalną temperaturę podczas transportu.
2. Po otrzymaniu należy natychmiast przechowywać fiolkę w temperaturze poniżej -150°C , aby zapewnić zachowanie integralności komórek, lub przejść do kroku 3, jeśli wymagana jest natychmiastowa hodowla.
3. W przypadku natychmiastowej hodowli należy szybko rozmrozić fiolkę, zanurzając ją w łaźni wodnej o temperaturze 37°C z czystą wodą i środkiem przeciwdrobnoustrojowym, delikatnie mieszając przez 40-60 sekund, aż pozostanie niewielka grudka lodu.
4. Wykonaj wszystkie kolejne kroki w sterylnych warunkach w kapturze przepływowej, dezynfekując fiolkę 70% etanolem przed otwarciem.
5. Ostrożnie otworzyć zdezynfekowaną fiolkę i przenieść zawiesinę komórek do 15 ml probówki wirówkowej zawierającej 8 ml podłoża hodowlanego o temperaturze pokojowej, delikatnie mieszając.
6. Wirować mieszaninę z prędkością $300 \times g$ przez 3 minuty w celu oddzielenia komórek i ostrożnie odrzucić supernatant zawierający pozostałości pożywki do zamrażania.
7. Delikatnie ponownie zawiesić osad komórek w 10 ml świeżego podłoża hodowlanego. W przypadku komórek przylegających, rozdzielić zawiesinę pomiędzy dwie kolby hodowlane T25; w przypadku hodowli zawieszonych, przenieść całą pożywkę do jednej kolby T25 w celu promowania skutecznej interakcji i wzrostu komórek.
8. Przestrzegaj ustalonych protokołów podhodowli w celu ciągłego wzrostu i utrzymania linii komórkowej, zapewniając wiarygodne wyniki eksperymentów.

**Incubation
Atmosphere**

37°C , 5% CO_2 , nawilżona atmosfera.

Flask Coating

Brak

**Freezing
Procedure**

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

L Komórki Wnt-3A | 305184

Shipping Conditions

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiołki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Storage Conditions

W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiołki w ciekłym azocie w fazie lotnej w temperaturze od -150 do -196°C . Przechowywanie w temperaturze -80°C jest dopuszczalne tylko jako krótki etap przejściowy przed przeniesieniem do ciekłego azotu.

Kontrola jakości / Profil genetyczny / HLA

Sterility

Zanieczyszczenie mykoplazmą jest wykluczane przy użyciu zarówno testów opartych na PCR, jak i metod wykrywania mykoplazmy opartych na luminescencji.

Aby upewnić się, że nie ma zanieczyszczenia bakteriami, grzybami lub drożdżami, hodowle komórkowe są poddawane codziennym kontrolom wizualnym.