

**L Células Wnt-3A | 305184****Informações gerais****Description**

A linha celular L Wnt-3A é um derivado das células L, originalmente derivadas de células de fibroblastos de ratinho. Esta linha celular foi especificamente concebida para expressar de forma estável a proteína Wnt-3A, um componente crítico da via de sinalização Wnt. A sinalização Wnt é crucial para vários processos de desenvolvimento, incluindo a proliferação, diferenciação e migração celular. A expressão estável da Wnt-3A nesta linha celular torna-a uma ferramenta valiosa para o estudo dos mecanismos moleculares subjacentes a estes processos biológicos, particularmente no contexto da investigação do cancro, da regeneração de tecidos e do desenvolvimento embrionário.

Os investigadores utilizam frequentemente a linha celular L Wnt-3A para produzir um meio condicionado rico em Wnt-3A, que pode depois ser utilizado para ativar a sinalização Wnt noutros tipos de células. Esta aplicação é especialmente benéfica no estudo da biologia das células estaminais e da medicina regenerativa, onde a sinalização Wnt desempenha um papel fundamental na manutenção da pluripotência das células estaminais e na promoção da reparação dos tecidos. Além disso, a linha celular serve de modelo para investigar a desregulação da sinalização Wnt em vários cancros, fornecendo informações sobre potenciais alvos terapêuticos e tratamentos.

Devido à expressão robusta e fiável de Wnt-3A, a linha celular L Wnt-3A é amplamente utilizada em laboratórios para explorar os efeitos da sinalização Wnt em diferentes processos celulares. É um recurso indispensável para os cientistas que pretendem desvendar as complexidades das funções celulares mediadas por Wnt e desenvolver novas estratégias para modular esta via em contextos de doença.

**Organism** Rato**Tissue** Tecido conjuntivo subcutâneo, areolar e adiposo**Synonyms** L-Wnt-3A, L-Wnt3A, LWnt3A, LWnt-3A**Caraterísticas****Breed/Subspecies** C3H/An**Age** 100 dias**Gender** Masculino**Morphology** Fibroblastos**Growth properties** Aderente**Dados regulamentares**

**L Células Wnt-3A | 305184**

<b>Citation</b>	L Wnt-3A (número de catálogo Cytion 305184)
<b>Biosafety level</b>	1
<b>NCBI_TaxID</b>	10090
<b>CellosaurusAccession</b>	CVCL_0635
<b>GMO Status</b>	GMO-S1: Esta linha derivada de células L murinas (L Wnt-3A) contém uma construção de expressão Wnt3a sob controlo do promotor PGK com resistência à neomicina, permitindo a secreção de Wnt3a. A inserção está integrada de forma estável nas células L. Esta classificação aplica-se apenas na Alemanha e pode ser diferente noutros países.

**Dados biomoleculares**

<b>Protein expression</b>	Wnt-3A
---------------------------	--------

**Manuseamento**

<b>Culture Medium</b>	DMEM, com: 4,5 g/L de glucose, com: 4 mM de L-Glutamina, com: 3,7 g/L de NaHCO <sub>3</sub> , com: 1,0 mM de piruvato de sódio (número de artigo Cytion 820300a)
<b>Supplements</b>	Suplementar o meio com 10% de FBS, 0,4 mg/mL de G-418
<b>Dissociation Reagent</b>	Accutase
<b>Subculturing</b>	Retirar o meio antigo das células aderentes e lavá-las com PBS sem cálcio e magnésio. Nos frascos T25, utilizar 3-5 ml de PBS e, nos frascos T75, 5-10 ml. Em seguida, cobrir completamente as células com Accutase, utilizando 1-2 ml para os frascos T25 e 2,5 ml para os frascos T75. Deixar as células incubar à temperatura ambiente durante 8-10 minutos para as destacar. Após a incubação, misturar suavemente as células com 10 ml de meio para as ressuspender e, em seguida, centrifugar a 300xg durante 3 minutos. Deitar fora o sobrenadante, ressuspender as células em meio fresco e transferi-las para novos frascos que já contenham meio fresco.
<b>Split ratio</b>	1:2 a 1:4
<b>Fluid renewal</b>	2 a 3 vezes por semana
<b>Freeze medium</b>	Como meio de criopreservação, utilizamos um meio de crescimento completo (incluindo FBS) + 10% DMSO para uma viabilidade pós-descongelamento adequada, ou CM-1 (número de catálogo Cytion 800100), que inclui osmoprotectores otimizados e estabilizadores metabólicos para melhorar a recuperação e reduzir o stress induzido pela crio.

## L Células Wnt-3A | 305184

### Thawing and Culturing Cells

1. Confirme que o frasco permanece profundamente congelado aquando da entrega, uma vez que as células são enviadas em gelo seco para manter as temperaturas ideais durante o transporte.
2. Após a receção, armazenar o frasco criogénico imediatamente a temperaturas inferiores a  $-150^{\circ}\text{C}$  para garantir a preservação da integridade celular, ou avançar para o passo 3 se for necessária uma cultura imediata.
3. Para uma cultura imediata, descongelar rapidamente o frasco imergindo-o num banho de água a  $37^{\circ}\text{C}$  com água limpa e um agente antimicrobiano, agitando suavemente durante 40-60 segundos até ficar um pequeno aglomerado de gelo.
4. Efetuar todos os passos subsequentes em condições estéreis numa capela de fluxo, desinfectando o frasco criogénico com etanol a 70% antes de o abrir.
5. Abrir cuidadosamente o frasco desinfectado e transferir a suspensão de células para um tubo de centrifugação de 15 ml contendo 8 ml de meio de cultura à temperatura ambiente, misturando suavemente.
6. Centrifugar a mistura a  $300 \times g$  durante 3 minutos para separar as células e eliminar cuidadosamente o sobrenadante que contém o meio de congelação residual.
7. Ressuspender suavemente o pellet de células em 10 ml de meio de cultura fresco. No caso de células aderentes, dividir a suspensão entre dois frascos de cultura T25; no caso de culturas em suspensão, transferir todo o meio para um frasco T25 para promover uma interação e um crescimento eficazes das células.
8. Cumprir os protocolos de subcultura estabelecidos para o crescimento e manutenção contínuos da linha celular, garantindo resultados experimentais fiáveis.

### Incubation Atmosphere

$37^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , atmosfera humidificada.

### Flask Coating

Nenhum

### Freezing Procedure

As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente  $-78^{\circ}\text{C}$  durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

## L Células Wnt-3A | 305184

### Shipping Conditions

As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente -78 °C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

### Storage Conditions

Para conservação a longo prazo, colocar os frascos em azoto líquido em fase de vapor a uma temperatura entre -150 e -196 °C. O armazenamento a -80 °C é aceitável apenas como um curto passo intermédio antes da transferência para azoto líquido.

## Controlo de qualidade / Perfil genético / HLA

### Sterility

A contaminação por micoplasma é excluída utilizando ensaios baseados em PCR e métodos de deteção de micoplasma baseados em luminescência.

Para garantir que não há contaminação bacteriana, fúngica ou de leveduras, as culturas de células são sujeitas a inspecções visuais diárias.