

**L celice Wnt-3A | 305184****Splošne informacije****Description**

Celična linija L Wnt-3A je izpeljanka celic L, ki so bile prvotno pridobljene iz celic mišjega fibroblasta. Ta celična linija je posebej zasnovana za stabilno izražanje beljakovine Wnt-3A, ki je ključna sestavina signalne poti Wnt. Signalizacija Wnt je ključna za različne razvojne procese, vključno s proliferacijo, diferenciacijo in migracijo celic. Zaradi stabilnega izražanja proteina Wnt-3A v tej celični liniji je ta dragoceno orodje za preučevanje molekularnih mehanizmov, na katerih temeljijo ti biološki procesi, zlasti v okviru raziskav raka, regeneracije tkiv in embrionalnega razvoja.

Raziskovalci pogosto uporabljajo celično linijo L Wnt-3A za proizvodnjo kondicioniranega medija, bogatega z Wnt-3A, ki se lahko nato uporabi za aktivacijo signalizacije Wnt v drugih vrstah celic. Ta uporaba je še posebej koristna pri študiju biologije matičnih celic in regenerativne medicine, kjer ima signalizacija Wnt ključno vlogo pri ohranjanju pluripotentnosti matičnih celic in spodbujanju obnove tkiv. Poleg tega celična linija služi kot model za preučevanje motenj v regulaciji signalizacije Wnt pri različnih vrstah raka, kar omogoča vpogled v potencialne terapevtske cilje in načine zdravljenja.

Zaradi močnega in zanesljivega izražanja Wnt-3A se celična linija L Wnt-3A pogosto uporablja v laboratorijih za raziskovanje učinkov signalizacije Wnt na različne celične procese. Je nepogrešljiv vir za znanstvenike, ki si prizadevajo razkriti zapletenost celičnih funkcij, ki jih posreduje Wnt, in razviti nove strategije za modulacijo te poti v kontekstu bolezni.

**Organism** Miška**Tissue** Podkožno vezivno tkivo, areolarno in maščobno tkivo**Synonyms** L-Wnt-3A, L-Wnt3A, LWnt3A, LWnt-3A**Značilnosti****Breed/Subspecies** C3H/An**Age** 100 dni**Gender** Moški**Morphology** Fibroblast**Growth properties** Pripadajoče**Regulativni podatki****Citation** L Wnt-3A (kataloška številka Cytion 305184)

**L celice Wnt-3A | 305184****Biosafety level** 1**NCBI\_TaxID** 10090**CellosaurusAccession** CVCL\_0635**GMO Status** GMO-S1: Ta linija, pridobljena iz mišjih L-celic (L Wnt-3A), vsebuje konstrukt za izražanje Wnt3a pod nadzorom promotorja PGK z odpornostjo proti neomicinu, ki omogoča izločanje Wnt3a. Vstavek je stabilno integriran v L-celice. Ta klasifikacija velja samo v Nemčiji in se lahko drugje razlikuje.**Biomolekularni podatki****Protein expression** Wnt-3A**Ravnanje s spletno stranjo****Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/L glukoze, w: 4 mM L-glutamina, w: 3,7 g/L NaHCO<sub>3</sub>, w: 1,0 mM natrijevega piruvata (številka izdelka Cytion 820300a)**Supplements** Gojišče dopolnite z 10 % FBS, 0,4 mg/ml G-418**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Odstranite staro gojišče z adherentnih celic in jih sperite s PBS, ki ne vsebuje kalcija in magnezija. Za bučke T25 uporabite 3-5 ml PBS, za bučke T75 pa 5-10 ml. Nato celice popolnoma prekrijte z Accutase, pri čemer uporabite 1-2 ml za bučke T25 in 2,5 ml za bučke T75. Celice pustite inkubirati pri sobni temperaturi 8-10 minut, da se ločijo. Po inkubaciji celice nežno premešajte z 10 ml gojišča, da se ponovno suspendirajo, nato jih 3 minute centrifugirajte pri 300xg. Zavrzite supernatant, ponovno suspendirajte celice v svežem gojišču in jih prenesite v nove bučke, ki že vsebujejo sveže gojišče.**Fluid renewal** 2 do 3-krat na teden**Freeze medium** Kot gojišče za kriokonzervacijo uporabljamo popolno rastno gojišče (vključno s FBS) + 10 % DMSO za ustrezno vitalnost po odmrznitvi ali CM-1 (kataloška številka 800100 podjetja Cytion), ki vključuje optimizirane osmoprotektante in presnovne stabilizatorje za izboljšanje okrevanja in zmanjšanje stresa, povzročene ga s kriom.

## L celice Wnt-3A | 305184

### Thawing and Culturing Cells

1. Prepričajte se, da je viala ob dostavi globoko zamrznjena, saj se celice pošiljajo na suhem ledu, da se med prevozom ohranijo optimalne temperature.
2. Po prejemu krioviala takoj shranite pri temperaturi pod  $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ , da zagotovite ohranitev celične celovitosti, ali pa nadaljujte s korakom 3, če je potrebno takojšnje gojenje.
3. Za takojšnje gojenje vialo hitro odtalite tako, da jo potopite v vodno kopel s čisto vodo in protimikrobnim sredstvom pri  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$  ter 40-60 sekund nežno mešate, dokler ne ostane majhen ledeni kepica.
4. Vse nadaljnje korake izvajajte v sterilnih pogojih v pretočni nape, pred odprtjem pa krioviala razkužite s 70 % etanolom.
5. Previdno odprite razkuženo vialo in celično suspenzijo prenesite v 15-mililitrsko centrifugirno epruveto, ki vsebuje 8 ml gojišča sobne temperature, ter nežno premešajte.
6. Mešanico centrifugirajte pri  $300 \times g$  3 minute, da ločite celice, in previdno zavržite supernatant, ki vsebuje ostanke zamrzovalnega gojišča.
7. Pelet celic nežno ponovno suspendirajte v 10 ml svežega gojišča. Pri adherentnih celicah suspenzijo razdelite med dve bučki T25; pri suspenzijskih kulturah prenesite vse gojišče v eno bučko T25, da spodbudite učinkovito interakcijo in rast celic.
8. Upoštevajte uveljavljene protokole subkultur za nadaljnjo rast in vzdrževanje celične linije ter tako zagotovite zanesljive rezultate poskusov.

### Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$ , 5 %  $\text{CO}_2$ , vlažno ozračje.

### Flask Coating

Za optimalno pritrnitev in sposobnost preživetja po odmrznitvi priporočamo uporabo s **kolagenom prevlečenih bučk ali plošč**.

### Freezing Procedure

Kriokonzervirane celične linije se pošiljajo na suhem ledu v potrjeni, izolirani embalaži z zadostno količino hladilnega sredstva, da se med prevozom vzdržuje približno  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Ob prejemu takoj preglejte embalažo in vialo nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.

## L celice Wnt-3A | 305184

### Shipping Conditions

Kriokonzervirane celične linije se pošiljajo na suhem ledu v potrjeni, izolirani embalaži z zadostno količino hladilnega sredstva, da se med prevozom vzdržuje približno  $-78^{\circ}\text{C}$ . Ob prejemu takoj preglejte embalažo in vialo nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.

### Storage Conditions

Za dolgotrajno shranjevanje vialo postavite v tekoči dušik v parni fazi pri približno  $-150$  do  $-196^{\circ}\text{C}$ . Shranjevanje pri  $-80^{\circ}\text{C}$  je sprejemljivo le kot kratek vmesni korak pred prenosom v tekoči dušik.

## Nadzor kakovosti / Genetski profil / HLA

### Sterility

Kontaminacija z mikoplazmo se izključi z uporabo testov na podlagi PCR in metod za odkrivanje mikoplazme na podlagi luminiscence.

Da se zagotovi, da ni kontaminacije z bakterijami, glivami ali kvasovkami, se celične kulture dnevno vizualno pregledujejo.