Product sheet

3T3-L1 rakud | 400107

Üldine teave

Description	3T3-L1 rakud on hiirte embrüonaalsetest fibroblastidest saadud preadipotsüütide klonaalne liin. Need rakud on saanud laialdaselt kasutatavaks in vitro mudeliks adipogeneesi, sealhulgas adipogeneesi ja lipogeneesi, mis on preadipotsüütide diferentseerumine adipotsüütideks (rasvarakkudeks), uurimiseks. Nimetus "3T3" viitab ülekandeprotokollile (T), mis hõlmas rakkude ülekandmist iga kolme päeva järel, ja "L1" tähistab konkreetset isoleeritud klooni. Esialgu on 3T3-L1 rakkudel fibroblastilaadne morfoloogia, kuid 3T3-L1 rakkude diferentseerimise indutseerimisel muutuvad 3T3-L1 rakud preadipotsüüdist küpseks adipotsüüdiks ja akumuleerivad lipiidipisaraid, mis on rasvumise ja metaboolse sündroomi tunnuseks. 3T3-L1 preadipotsüütidest 3T3-L1 adipotsüütideks diferentseerumise protsessi käivitab spetsiifiline indutseerijate kokteil, mis tavaliselt sisaldab deksametasooni, 3-isobutüül-1-metüülksantiini (IBMX) ja insuliini. Kui 3T3-L1 adipotsüüdid võtavad omaks küpsete adipotsüütide omadused, hakkavad nad ekspresseerima geene, mis on adipotsüütide funktsiooni jaoks olulised, näiteks neid, mis kodeerivad rasvhapete ainevahetuses osalevaid ensüüme ja hormoone nagu leptiin ja adiponektiin, mis mängivad olulist rolli söögiisu, energiatasakaalu ja insuliinitundlikkuse reguleerimisel. 3T3-L1 rakkude muundumise uurimine parandab meie arusaamist adipogeneesist ja rasvumisest ning rasvaga seotud haigustest, nagu 2. tüüpi diabeet, sest see näitab, kuidas lipiidide kogunemine adipotsüütidesse põhjustab rakkude talitlushäireid ja laiemaid ainevahetusprobleeme. Lisaks sellele aitab 3T3-L1 rakuliin uurida erinevate ainete mõju adipotsüütide käitumisele, näiteks farmakoloogiliste ainete mõju lipolüüsile või teatud toitude põletikuvastaseid omadusi, mis võivad ennetada insuliiniresistentsust. 3T3-L1 rakke on laialdaselt kasutatud adipotsüütide diferentseerumise, insuliinitundlikkuse ja lipiidide metabolismi aluseks olevate molekulaarsete ja rakuliste mehhanismide ning erinevate toitumis- ja farmakoloogiliste ainete mõju uurimiseks nendele protsessidele. Arvestades nende võimet diferentseeruda adipotsüütideks ja nende lihtsat kasvatamist in vitro, on 3T3-L1 rakud väärtuslik mudelisüsteem rasvumise ja diabeedi uurimiseks ning uute, ainevahetushaigustega seotud terapeutiliste sihtmärkide avastamiseks
Organism	Hiir
Tissue	Embrüonaalne
Metastatic site	Ei kohaldata (embrüonaalne preadipotsüüt; ei põhjusta kasvajate teket)
Applications	3T3-L1 rakke on kasutatud mudelsüsteemina adipogeneesi ja lipiidide ainevahetust reguleerivate molekulaarsete mehhanismide mõistmiseks ning neid on kasutatud rasvumise, diabeedi ja ainevahetushaigustega seotud uuringutes. Nad on ka elujõulised transfektsioonivõrgustikud.
Synonyms	3T3 L1, 3T3L1, 3T3-L1 ad, NIH-3T3-L1, NIH3T3-L1

Omadused

Product sheet

3T3-L1 rakud | 400107

Breed/Subspecies	Šveitsi albiino
Age	Embrüo
Gender	Mees
Morphology	Fibroblastilaadsed
Cell type	Preadipotsüüt / adipotsüüt (diferentseerumisel)
Growth properties	Kinnipeetav

Regulatiivsed andmed

Citation	3T3-L1 (Cytioni kataloginumber 400107)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	10090
CellosaurusAccession	CVCL_0123
GMO Status	Geneetilist modifitseerimist ei ole toimunud; 3T3-L1 on NIH/3T3 liini subkloon, mis on valitud välja adipogeense diferentseerumisvõime alusel; transgeeni ei ole lisatud

Biomolekulaarsed andmed

Tumorigenic	Ei
Virus susceptibility	Hiirte leukeemiaviirus, hiirte sarkoomiviirus, vesikulaarstomatiit, vaktsiin, herpes simplex, N-troopilised onkornaviirused C
Products	Insuliin, kollageen, triglütseriidid
Ploidy status	Aneuploidne
Karyotype	2n=40

Töötlemine

3T3-L1 rakud | 400107

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/L glükoosi, w: 4 mM L-glutamiini, w: 3,7 g/L NaHCO3, w: 1,0 mM naatriumpüruvaati (Cytioni artikli number 820300a)
Supplements	Täiendada söötme 10% FBS-ga
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Eemaldage kleepunud rakkudelt vana söötme ja peske neid PBS-ga, milles puudub kaltsium ja magneesium. T25 kolbide puhul kasutage 3-5 ml PBS-i ja T75 kolbide puhul 5-10 ml. Seejärel katke rakud täielikult Accutase'iga, kasutades 1-2 ml T25 kolbide puhul ja 2,5 ml T75 kolbide puhul. Laske rakkudel inkubeerida 8-10 minutit toatemperatuuril, et need eralduksid. Pärast inkubeerimist segage rakud ettevaatlikult 10 ml söötmega, et neid resuspenseerida, seejärel tsentrifuugige 3 minutit 300xg juures. Visake supernatant ära, suspenseerige rakud uuesti värskes keskkonnas ja viige need uutesse kolvidesse, mis sisaldavad juba värsket keskkonda.
Split ratio	1–5
Seeding density	1–3 × 10^4 rakku/cm^2
Fluid renewal	Iga 2 kuni 3 päeva tagant
Freeze medium	Krüosäilitusvedelikusena kasutame täielikku kasvukeskkonda (sh FBS) + 10% DMSO, et tagada piisav elujõulisus pärast sulatamist, või CM-1 (Cytioni katalooginumber 800100), mis sisaldab optimeeritud osmoprotektante ja metaboolseid stabilisaatoreid, et parandada taastumist ja vähendada krüostressi.

3T3-L1 rakud | 400107

Thawing and Culturing Cells	1. Veenduge, et viaal jääb tarnimisel sügavkülmutatud, sest rakud transporditakse kuiva jääga, et säilitada optimaalne temperatuur transpordi ajal. 2. Pärast kättesaamist säilitage krüoviaal kas kohe temperatuuril alla -150 °C, et tagada rakkude terviklikkuse säilimine, või jätkake sammuga 3, kui on vaja koheselt kultiveerida. 3. Kohese kultiveerimise korral sulatage viaali kiiresti, kastes selle 37 °C veevanni puhta vee ja antimikroobse ainega, segades seda õrnalt 40-60 sekundit, kuni alles jääb väike jääklomp. 4. Tehke kõik järgmised toimingud steriilsetes tingimustes vooluhoodis, desinfitseerides krüoviaal enne avamist 70% etanooliga. 5. Avage desinfitseeritud viaali ettevaatlikult ja viige rakususpensioon ettevaatlikult segades 15 ml tsentrifuugitorusse, mis sisaldab 8 ml toatemperatuuril olevat kasvukeskkonda. 6. Rakkude eraldamiseks tsentrifuugige segu 300 x g juures 3 minutit ja visake ülejäänud külmutusvedelikku sisaldav supernatant ettevaatlikult ära. 7. Resuspendeerige rakupellet ettevaatlikult 10 ml värskes kasvukeskkonnas. Adhereeruvate rakkude puhul jagage suspensioon kahe T25 kultuurkolvi vahel; suspensioonikultuuride puhul kandke kogu söötmekeskkond ühte T25 kolbi, et soodustada rakkude tõhusat koostoimet ja kasvu. 8. Järgige kehtestatud subkultuuriprotokolle rakuliini jätkuvaks kasvuks ja säilitamiseks, tagades usaldusväärsed katsetulemused.
Incubation Atmosphere	37°C, 5% $_{CO2}$, niisutatud atmosfäär.
Flask Coating	Puudub
Freezing Procedure	Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu -78 °C. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige viaalid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.
Shipping Conditions	Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu -78 °C. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige viaalid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

Storage Conditions	Pikaajaliseks säilitamiseks asetage viaalid aurufaasis vedela lämmastikuga umbes -150 kuni -196 °C juures. Säilitamine temperatuuril -80 °C on vastuvõetav ainult lühikese vaheetapina enne vedela lämmastikuga üleviimist.

Kvaliteedikontroll ja molekulaaranalüüs

Sterility	Mükoplasmakontaminatsioon on välistatud nii PCR-põhiste analüüside kui ka luminestsentsil põhinevate mükoplasma tuvastamise meetodite abil. Bakteriaalse, seene- või pärmsaaste puudumise tagamiseks kontrollitakse rakukultuure iga päev visuaalselt.