Product sheet

3T3-L1 ląstelės | 400107

Bendra informacija

Description	3T3-L1 ląstelės yra preadipocitų, gautų iš pelės embriono fibroblastų, kloninė linija. Šios ląstelės tapo plačiai naudojamu in vitro modeliu tiriant adipogenezės procesą, įskaitant adipogenezę ir lipogenezę, t. y. preadipocitų diferenciaciją į adipocitus (riebalines ląsteles). Pavadinimas "3T3" reiškia perkėlimo (T) protokolą, pagal kurį ląstelės perkeliamos kas 3 dienas, o "L1" reiškia konkretų išskirtą kloną. Iš pradžių 3T3-L1 ląstelės pasižymi į fibroblastus panašia morfologija, tačiau, paskatinus 3T3-L1 ląstelių diferenciaciją, 3T3-L1 ląstelės iš preadipocitų pereina į brandžių adipocitų būseną ir kaupia lipidų lašelius, kurie yra nutukimo ir metabolinio sindromo požymis. Diferenciacijos procesą iš 3T3-L1 preadipocitų į 3T3-L1 adipocitus skatina specifinis induktorių kokteilis, kurį paprastai sudaro deksametazonas, 3-izobutil-1-metilksantinas (IBMX) ir insulinas. Kai 3T3-L1 adipocitai įgyja subrendusių adipocitų savybes, jie pradeda ekspresuoti genus, kurie yra labai svarbūs adipocitų funkcijai, pavyzdžiui, genus, koduojančius fermentus, dalyvaujančius riebalų rūgščių apykaitoje, ir hormonus, tokius kaip leptinas ir adiponektinas, kurie vaidina svarbų vaidmenį reguliuojant apetitą, energijos balansą ir jautrumą insulinui. Tiriant 3T3-L1 ląstelių transformacijas, geriau suprantama adipogenezė, nutukimas ir su riebalais susijusios ligos, pavyzdžiui, antrojo tipo diabetas, nes atskleidžiama, kaip lipidų kaupimasis adipocituose lemia ląstelių disfunkciją ir platesnes medžiagų apykaitos problemas. Be to, 3T3-L1 ląstelių linija yra naudinga tiriant įvairių medžiagų poveikį adipocitų elgsenai, pavyzdžiui, farmakologinių medžiagų poveikį lipolizei arba tam tikrų dietų priešuždegimines savybes, kurios gali užkirsti kelią atsparumui insulinui. 3T3-L1 ląstelės plačiai naudojamos tiriant molekulinius ir ląstelinius mechanizmus, kuriais grindžiama adipocitų diferenciacija, jautrumas insulinui, lipidų apykaita ir įvairių mitybos bei farmakologinių medžiagų poveikis šiems procesams. Atsižvelgiant į jų gebėjimą diferencijuotis į adipocitus ir tai, kad jas lengva auginti in vitro, 3T3-L1 ląstelės yra vertinga modelinė sistema nutukimo ir cukrinio diabeto tyrimams, taip pat naujiems terapiniams taikiniams, susijusiems su medžiagų apykaitos ligomis, atrasti
Organism	Pelė
Tissue	Embrioninis
Metastatic site	Netaikoma (embrioniniai preadipocitai; nesukelia navikų)
Applications	3T3-L1 ląstelės buvo naudojamos kaip modelinė sistema siekiant suprasti molekulinius mechanizmus, reguliuojančius adipogenezę ir lipidų apykaitą, ir buvo naudojamos atliekant tyrimus, susijusius su nutukimu, diabetu ir medžiagų apykaitos ligomis. Jos taip pat yra tinkamas transfekcijos šeimininkas.
Synonyms	3T3 L1, 3T3L1, 3T3-L1 ad, NIH-3T3-L1, NIH3T3-L1

Charakteristikos

Breed/Subspecies	Šveicarijos albinosai

Product sheet

3T3-L1 ląstelės | 400107

Age	Embrionas
Gender	Vyras
Morphology	Į fibroblastus panašus
Cell type	Preadipocitas / adipocitas (diferencijuojantis)
Growth properties	Prigludęs

Reguliavimo duomenys

Citation	3T3-L1 (Cytion katalogo numeris 400107)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	10090
CellosaurusAccession	CVCL_0123
GMO Status	Nėra genetiškai modifikuota; 3T3-L1 yra NIH/3T3 linijos subklonas, atrinktas dėl adipogeninės diferenciacijos potencialo; nėra įterpto transgeno

Biomolekuliniai duomenys

Tumorigenic	Ne
Virus susceptibility	Murine leukemia virusas, murine sarcoma virusas, vezikulinis stomatitas, vakcinija, paprastasis herpesas, N-tropiniai onkornavirusai C
Products	Insulinas, kolagenas, trigliceridai
Ploidy status	Aneuploidinis
Karyotype	2n=40

Tvarkymas

Culture Medium	DMEM, š: 4,5 g/l gliukozės, š: 4 mM L-glutamino, š: 3,7 g/l NaHCO3, š: 1,0 mM natrio piruvato (Cytion gaminio numeris 820300a)

3T3-L1 ląstelės | 400107

Supplements	Papildykite terpę 10 % FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Pašalinkite seną terpę nuo prilipusių ląstelių ir nuplaukite jas PBS, kuriame nėra kalcio ir magnio. T25 kolboms naudokite 3-5 ml PBS, o T75 kolboms - 5-10 ml. Tuomet visiškai užpilkite ląsteles "Accutase", naudodami 1-2 ml T25 kolboms ir 2,5 ml T75 kolboms. Leiskite ląstelėms inkubuotis kambario temperatūroje 8-10 minučių, kad jos atsiskirtų. Po inkubacijos atsargiai sumaišykite ląsteles su 10 ml terpės, kad jos vėl suspenduotų, tada 3 minutes centrifuguokite 300xg greičiu. Išmeskite supernatantą, vėl sutirpinkite ląsteles šviežioje terpėje ir perkelkite jas į naujas kolbas, kuriose jau yra šviežia terpė.
Split ratio	1–5
Seeding density	nuo 1 iki 3 × 10^4 ląstelių/cm^2
Fluid renewal	Kas 2-3 dienas
Freeze medium	Kaip kriokonservavimo terpę naudojame visišką augimo terpę (įskaitant FBS) + 10 % DMSO, kad būtų užtikrintas tinkamas gyvybingumas po atšildymo, arba CM-1 (Cytion katalogo numeris 800100), kurioje yra optimizuotų osmoprotektorių ir medžiagų apykaitos stabilizatorių, kad būtų pagerintas atsigavimas ir sumažintas kriokonservavimo sukeltas stresas.

3T3-L1 ląstelės | 400107

Thawing and Culturing Cells

1. Patikrinkite, ar pristatant buteliuką jis išlieka gerai užšaldytas, nes ląstelės gabenamos ant sauso ledo, kad gabenimo metu būtų palaikoma optimali temperatūra.
2. Gavę iš karto laikykite kriovialą žemesnėje nei -150 °C temperatūroje, kad užtikrintumėte ląstelių vientisumo išsaugojimą, arba pereikite prie 3 veiksmo, jei reikia nedelsiant kultivuoti.
3. Jei norite nedelsiant pradėti kultivuoti, greitai atšildykite buteliuką panardindami jį į 37 °C temperatūros vandens vonelę su švariu vandeniu ir antimikrobine priemone, švelniai maišydami 40-60 sekundžių, kol liks nedidelis ledo gabalėlis.
4. Visus tolesnius veiksmus atlikite steriliomis sąlygomis srauto gaubte, prieš atidarydami kriovialą dezinfekuokite jį 70 % etanoliu.
5. Atsargiai atidarykite dezinfekuotą buteliuką ir perpilkite ląstelių suspensiją į 15 ml centrifugos mėgintuvėlį, kuriame yra 8 ml kambario temperatūros mitybinės terpės, atsargiai išmaišykite.
6. Mišinį centrifuguokite 300 x g greičiu 3 minutes, kad atsiskirtų ląstelės, ir atsargiai išmeskite supernatantą su šaldymo terpės likučiais.
7. Švelniai resuspenduokite ląstelių granules 10 ml šviežios mitybinės terpės. Jei ląstelės yra prigludusios, suspensiją padalykite į dvi T25 kolbas; jei tai suspensinės kultūros, visą terpę perkelkite į vieną T25 kolbą, kad paskatintumėte veiksmingą ląstelių sąveiką ir augimą.
8. Laikykitės nustatytų subkultūrų protokolų, kad ląstelių linija nuolat augtų ir būtų palaikoma, taip užtikrinant patikimus eksperimentų rezultatus.

Incubation Atmosphere

37 °C, 5 % $_{CO2}$, drėkintoje atmosferoje.

Flask Coating

Nėra

Freezing Procedure

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug -78 °C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelkite mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

Shipping Conditions

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug -78 °C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelkite mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

Storage Conditions	Norėdami ilgai saugoti, įdėkite buteliukus į garų fazės skystą azotą maždaug -150-196 °C temperatūroje. Laikymas -80 °C temperatūroje yra priimtinas tik kaip trumpas tarpinis etapas prieš perkeliant į skystąjį azotą.

Kokybės kontrolė ir molekulinė analizė

Sterility	Mikoplazmos užterštumas atmetamas taikant PGR pagrįstus tyrimus ir liuminescencinius mikoplazmos aptikimo metodus. Siekiant užtikrinti, kad nebūtų užteršimo bakterijomis, grybeliais ar mielėmis, ląstelių kultūros kasdien vizualiai tikrinamos.