

**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 priešūždegimines savybes, kurios gali užkirsti kelią atsparumui insulinui.

3T3-L1 ląstelės plačiai naudojamos tiriant molekulinis 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**

Not applicable (embryonic preadipocyte; non-tumorigenic)

**Applications**

3T3-L1 ląstelės buvo naudojamos kaip modelinė sistema siekiant suprasti molekulinis 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

**3T3-L1 ląstelės | 400107****Age** Embrionas**Gender** Vyras**Morphology** | fibroblastus panašus**Cell type** Preadipocyte / adipocyte (upon differentiation)**Growth properties** Prigludęs**Reguliavimo duomenys****Citation** 3T3-L1 (Cytion katalogo numeris 400107)**Biosafety level** 1**NCBI\_TaxID** 10090**CellosaurusAccession** CVCL\_0123**GMO Status** No genetic modification; 3T3-L1 is a subclone of the NIH/3T3 line selected for adipogenic differentiation potential; no introduced transgene**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 NaHCO<sub>3</sub>, 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 perkeltite jas į naujas kolbas, kuriose jau yra šviežia terpė.**Split ratio** 1 to 5**Seeding density** 1 to  $3 \times 10^4$  cells/cm<sup>2</sup>**Fluid renewal** Every 2 to 3 days**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  $-150^{\circ}\text{C}$  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  $37^{\circ}\text{C}$  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 perkelti 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

$37^{\circ}\text{C}$ , 5 %  $\text{CO}_2$ , 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  $-78^{\circ}\text{C}$  temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelti 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  $-78^{\circ}\text{C}$  temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelti mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

## 3T3-L1 ląstelės | 400107

### 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 skystą azotą.

## Kokybės kontrolė / Genetinis profilis / HLA

### 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.