Product sheet

3T3-L1 šūnas | 400107

Vispārīga informācija

Description	3T3-L1 šūnas ir preadipocītu klonu līnija, kas iegūta no peļu embrionālajiem fibroblastiem. Šīs šūnas ir kļuvušas par plaši izmantotu in vitro modeli adipoģenēzes procesa izpētei, tostarp adipoģenēzes un lipogenēzes, kas ir preadipocītu diferenciācija par adipocītiem (tauku šūnām). Nosaukums "3T3" attiecas uz pārneses (T) protokolu, kas paredzēja šūnu pārnesi ik pēc 3 dienām, un "L1" apzīmē konkrēto izdalīto klonu. Sākotnēji 3T3-L1 šūnām ir fibroblastiem līdzīga morfoloģija, bet, inducējot 3T3-L1 šūnu diferenciāciju, 3T3-L1 šūnas no preadipocītu stāvokļa pāriet nobriedušu adipocītu stāvoklī un uzkrāj tauku pilienus, kas ir aptaukošanās un metaboliskā sindroma pazīme. Diferenciācijas procesu no 3T3-L1 preadipocītiem uz 3T3-L1 adipocītiem izraisa īpašs induktoru kokteilis, kas parasti ietver deksametazonu, 3-izobutil-1metilksantīnu (IBMX) un insulīnu. Kad 3T3-L1 adipocīti iegūst nobriedušu adipocītu īpašības, tie sāk ekspresēt adipocītu funkcijām būtiskus gēnus, piemēram, tos, kas kodē taukskābju metabolismā iesaistītos enzīmus un tādus hormonus kā leptīns un adiponektīns, kuriem ir būtiska nozīme apetītes, enerģijas līdzsvara un jutības pret insulīnu regulēšanā. 3T3-L1 šūnu transformāciju izpēte uzlabo mūsu izpratni par adipoģenēzi, aptaukošanos un ar taukiem saistītām slimībām, piemēram, 2. tipa diabētu, atklājot, kā lipīdu uzkrāšanās adipocītos izraisa šūnu disfunkciju un plašākas vielmaiņas problēmas. Turklāt 3T3-L1 šūnu līnija ir noderīga, pētot dažādu vielu ietekmi uz adipocītu uzvedību, piemēram, farmakoloģisko līdzekļu ietekmi uz lipolīzi vai dažu diētu pretiekaisuma īpašības, kas var novērst insulīna rezistenci. 3T3-L1 šūnas ir plaši izmantotas, lai pētītu molekulāros un šūnu mehānismus, kas ir adipocītu diferenciācijas, jutības pret insulīnu, lipīdu metabolisma un dažādu uztura un farmakoloģisko līdzekļu ietekmes uz šiem procesiem pamatā. Ņemot vērā 3T3-L1 šūnu spēju diferencēties par adipocītiem un to ērto kultivēšanu in vitro, tās ir vērtīga modeļa sistēma aptaukošanās un diabēta pētījumiem, kā arī jaunu terapeitisko mērķu atklāšanai saistībā ar metaboliskām slimībām
Organism	Pele
Tissue	Embrionālais
Metastatic site	Neattiecas (embriju preadipocīts; nav audzēju veicinošs)
Applications	3T3-L1 šūnas ir izmantotas kā modeļa sistēma, lai izprastu molekulāros mehānismus, kas regulē adipoģenēzi un lipīdu metabolismu, un ir izmantotas pētījumos, kas saistīti ar aptaukošanos, diabētu un vielmaiņas slimībām. Tās ir arī dzīvotspējīgs transfekcijas saimnieks.
Synonyms	3T3 L1, 3T3L1, 3T3-L1 ad, NIH-3T3-L1, NIH3T3-L1

Raksturojums

Breed/Subspecies	Šveices albīns

Product sheet

3T3-L1 šūnas | 400107

Age	Embrijs
Gender	Vīrieši
Morphology	Fibroblastiem līdzīgs
Cell type	Preadipocīts / adipocīts (pēc diferenciācijas)
Growth properties	Adherent

Normatīvie dati

Citation	3T3-L1 (Cytion kataloga numurs 400107)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	10090
CellosaurusAccession	CVCL_0123
GMO Status	Nav ģenētiski modificēts; 3T3-L1 ir NIH/3T3 līnijas subklons, kas atlasīts pēc tā adipogēnās diferenciācijas potenciāla; nav ievadīts transgēns

Biomolekulārie dati

Tumorigenic	Nē
Virus susceptibility	Murīnu leikēmijas vīruss, murīnu sarkomas vīruss, vezikulārais stomatīts, vakcīnija, herpes simplex, N-tropiskie onkornavīrusi C
Products	Insulīns, kolagēns, triglicerīdi
Ploidy status	Aneuploīds
Karyotype	2n=40

Darbs ar

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/l glikozes, w: 4 mM L-glutamīna, w: 3,7 g/l $NaHCO_3$, w: 1,0 mM nātrija piruvāta (Cytion izstrādājuma numurs 820300a)

3T3-L1 šūnas | 400107

Supplements	Papildināt barotni ar 10% FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Noņemt veco barotni no pielipušajām šūnām un mazgāt tās ar PBS, kurā nav kalcija un magnija. T25 kolbām izmantojiet 3-5 ml PBS, bet T75 kolbām - 5-10 ml. Pēc tam pilnībā pārklājiet šūnas ar Accutase, izmantojot 1-2 ml T25 kolbām un 2,5 ml T75 kolbām. Ļaujiet šūnām inkubēties istabas temperatūrā 8-10 minūtes, lai tās atdalītos. Pēc inkubācijas uzmanīgi samaisiet šūnas ar 10 ml barotnes, lai tās atkārtoti suspendētu, pēc tam centrifugējiet 3 minūtes ar 300xg. Izmetiet supernatantu, atkārtoti suspendējiet šūnas svaigā barotnē un pārvietojiet tās jaunās kolbās, kurās jau ir svaiga barotne.
Split ratio	no 1 līdz 5
Seeding density	1 līdz 3 × 10^4 šūnas/cm^2
Fluid renewal	Ik pēc 2 līdz 3 dienām
Freeze medium	Kā kriokonservēšanas barotni mēs izmantojam pilnvērtīgu augšanas barotni (ieskaitot FBS) + 10 % DMSO, lai nodrošinātu pietiekamu dzīvotspēju pēc atkausēšanas, vai CM-1 (Cytion kataloga numurs 800100), kas ietver optimizētus osmoprotektorus un metaboliskos stabilizatorus, lai uzlabotu atveseļošanos un samazinātu krioinducēto stresu.

Thawing and Culturing Cells

1. Pārliecinieties, ka pēc piegādes flakons paliek dziļi sasaldēts, jo šūnas tiek sūtītas uz sausā ledus, lai pārvadāšanas laikā saglabātu optimālu temperatūru.
2. Pēc saņemšanas vai nu nekavējoties uzglabāt kriovialu temperatūrā, kas zemāka par -150 °C, lai nodrošinātu šūnu integritātes saglabāšanu, vai arī turpināt 3. posmu, ja nepieciešama tūlītēja kultivēšana.
3. Tūlītējas kultivēšanas gadījumā ātri atkausējiet flakonu, iegremdējot to 37°C ūdens vannā ar tīru ūdeni un antibakteriālu līdzekli, viegli maisot 40-60 sekundes, līdz paliek neliels ledus gabaliņš.
4. Visas turpmākās darbības veiciet sterilos apstākļos plūsmas nosūcējā, pirms atvēršanas dezinficējot kriovialu ar 70% etanolu.
5. Uzmanīgi atveriet dezinficēto flakonu un pārnesiet šūnu suspensiju 15 ml centrifūgas mēģenē, kurā ir 8 ml istabas temperatūras barotnes, uzmanīgi samaisot.
6. Centrifugējiet maisījumu ar 300 x g 3 minūtes, lai atdalītu šūnas, un uzmanīgi izmetiet virskārtu, kas satur saldēšanas barotnes atlikumus.
7. Viegli resuspendēt šūnu granulas 10 ml svaigas barotnes. Adhēzijas šūnu gadījumā suspensiju sadalīt divās T25 kolbās; suspensijas kultūrām visu barotni pārnest vienā T25 kolbā, lai veicinātu efektīvu šūnu mijiedarbību un augšanu.
8. Ievērojiet noteiktos subkultūru protokolus, lai nodrošinātu nepārtrauktu šūnu līnijas augšanu un uzturēšanu, tādējādi nodrošinot uzticamus eksperimentu rezultātus.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% $_{CO2}$, mitrināta atmosfēra.

Flask Coating

Neviens

Freezing Procedure

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidruma daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

Shipping Conditions	Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidruma daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.
Storage Conditions	Ilgstošai uzglabāšanai flakonus ievietojiet šķidrā slāpeklī ar tvaika fāzi aptuveni -150 līdz -196 °C temperatūrā. Uzglabāšana -80 °C temperatūrā ir pieļaujama tikai kā īss starpposms pirms pārvietošanas uz šķidro slāpekli.

Kvalitātes kontrole un molekulārā analīze

Sterility	Mikoplazmas piesārņojums tiek izslēgts, izmantojot gan uz PCR balstītus testus, gan uz luminiscenci balstītas mikoplazmas noteikšanas metodes. Lai pārliecinātos, ka nav baktēriju, sēnīšu vai rauga piesārņojuma, šūnu kultūras katru dienu vizuāli pārbauda.