

komórki 3T3-L1 | 400107**Informacje ogólne****Description**

komórki 3T3-L1 są klonalną linią preadipocytów pochodzących z mysich fibroblastów embrionalnych. Komórki te stały się szeroko stosowanym modelem in vitro do badania procesu adipogenezy, w tym adipogenezy i lipogenezy, czyli różnicowania preadipocytów w adipocyty (komórki tłuszczowe). Nazwa "3T3" odnosi się do protokołu transferu (T), który obejmował przenoszenie komórek co 3 dni, a "L1" oznacza konkretny klon, który został wyizolowany.

Początkowo komórki 3T3-L1 wykazują morfologię podobną do fibroblastów, ale po indukcji różnicowania komórek 3T3-L1 zmieniają się z preadipocytów w dojrzałe adipocyty i gromadzą kropelki lipidów, co jest cechą charakterystyczną otyłości i zespołu metabolicznego. Proces różnicowania z preadipocytów 3T3-L1 do adipocytów 3T3-L1 jest wyzwalany przez specyficzny koktajl czynników indukujących, zwykle obejmujący deksametazon, 3-izobutylo-1-metyloksantynę (IBMX) i insulinę.

Gdy adipocyty 3T3-L1 przyjmują cechy dojrzałych adipocytów, zaczynają wyrażać geny kluczowe dla funkcji adipocytów, takie jak te kodujące enzymy zaangażowane w metabolizm kwasów tłuszczowych i hormony, takie jak leptyna i adiponektyna, które odgrywają istotną rolę w regulacji apetytu, bilansu energetycznego i wrażliwości na insulinę. Badanie transformacji komórek 3T3-L1 zwiększa nasze zrozumienie adipogenezy i otyłości oraz chorób związanych z tłuszczami, takich jak cukrzyca typu 2, poprzez ujawnienie, w jaki sposób akumulacja lipidów w adipocytach prowadzi do dysfunkcji komórkowej i szerszych problemów metabolicznych.

Co więcej, linia komórkowa 3T3-L1 odgrywa kluczową rolę w badaniu wpływu różnych substancji na zachowanie adipocytów, takich jak wpływ środków farmakologicznych na lipolizę lub właściwości przeciwwzajemne niektórych diet, które mogą zapobiegać insulinooporności.

komórki 3T3-L1 były szeroko wykorzystywane do badania mechanizmów molekularnych i komórkowych leżących u podstaw różnicowania adipocytów, wrażliwości na insulinę, metabolizmu lipidów oraz wpływu różnych czynników żywieniowych i farmakologicznych na te procesy. Biorąc pod uwagę ich zdolność do różnicowania się w adipocyty i łatwość hodowli in vitro, komórki 3T3-L1 stanowią cenny system modelowy do badań nad otyłością i cukrzycą, a także do odkrywania nowych celów terapeutycznych związanych z chorobami metabolicznymi

Organism

Mysz

Tissue

Embrionalny

Metastatic site

Not applicable (embryonic preadipocyte; non-tumorigenic)

Applications

komórki 3T3-L1 zostały wykorzystane jako system modelowy do zrozumienia mechanizmów molekularnych regulujących adipogenezę i metabolizm lipidów, a także zostały wykorzystane w badaniach związanych z otyłością, cukrzycą i chorobami metabolicznymi. Są one również żywym gospodarzem transfekcji.

Synonyms

3T3 L1, 3T3L1, 3T3-L1 ad, NIH-3T3-L1, NIH3T3-L1

Charakterystyka

komórki 3T3-L1 | 400107

Breed/Subspecies	Szwajcarski albinos
Age	Zarodek
Gender	Męczyzna
Morphology	Podobny do fibroblastów
Cell type	Preadipocyte / adipocyte (upon differentiation)
Growth properties	Adherent

Dane regulacyjne

Citation	3T3-L1 (numer katalogowy Cytion 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

Dane biomolekularne

Tumorigenic	Nie
Virus susceptibility	Wirus biączki mysiej, wirus mięsaka mysiego, pęcherzykowe zapalenie jamy ustnej, krowianka, wirus opryszczki pospolitej, N-tropowe onkornawirusy C
Products	Insulina, kolagen, trójglicerydy
Ploidy status	Aneuploid
Karyotype	2n=40

Obsługa

komórki 3T3-L1 | 400107

Culture Medium DMEM, w: 4,5 g/l glukozy, w: 4 mM L-glutaminy, w: 3,7 g/l NaHCO₃, w: 1,0 mM pirogronianu sodu (numer artykułu Cytion 820300a)

Supplements Uzuppełnić podłoże 10% FBS

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Usuń starą pożywkę z przylegających komórek i przemyj je PBS, który nie zawiera wapnia i magnezu. W przypadku kolb T25 należy użyć 3-5 ml PBS, a w przypadku kolb T75 5-10 ml. Następnie całkowicie pokryj komórki Accutase, używając 1-2 ml dla kolb T25 i 2,5 ml dla kolb T75. Pozwól komórkom inkubować w temperaturze pokojowej przez 8-10 minut, aby je oddzielić. Po inkubacji delikatnie wymieszaj komórki z 10 ml pożywki, aby ponownie je zawiesić, a następnie odwiruj przy 300xg przez 3 minuty. Odrzucić supernatant, ponownie zawiesić komórki w świeżej pożywce i przenieść je do nowych kolb zawierających już świeżą pożywkę.

Split ratio 1 to 5

Seeding density 1 to 3×10^4 cells/cm²

Fluid renewal Every 2 to 3 days

Freeze medium Jako pożywki do kriokonserwacji używamy kompletnej pożywki wzrostowej (w tym FBS) + 10% DMSO w celu zapewnienia odpowiedniej żywotności po rozmrożeniu lub CM-1 (numer katalogowy Cytion 800100), która zawiera zoptymalizowane osmoprotektanty i stabilizatory metaboliczne w celu zwiększenia regeneracji i zmniejszenia stresu wywołanego kriokonserwacją.

komórki 3T3-L1 | 400107

Thawing and Culturing Cells

1. Upewnij się, że fiolka pozostaje głęboko zamrożona w momencie dostawy, ponieważ komórki są wysyłane w suchym lodzie, aby utrzymać optymalną temperaturę podczas transportu.
2. Po otrzymaniu należy natychmiast przechowywać fiolkę w temperaturze poniżej -150°C , aby zapewnić zachowanie integralności komórek, lub przejść do kroku 3, jeśli wymagana jest natychmiastowa hodowla.
3. W przypadku natychmiastowej hodowli należy szybko rozmrozić fiolkę, zanurzając ją w łaźni wodnej o temperaturze 37°C z czystą wodą i środkiem przeciwdrobnoustrojowym, delikatnie mieszając przez 40-60 sekund, aż pozostanie niewielka grudka lodu.
4. Wykonaj wszystkie kolejne kroki w sterylnych warunkach w kapturze przepływowej, dezynfekując fiolkę 70% etanolem przed otwarciem.
5. Ostrożnie otworzyć zdezynfekowaną fiolkę i przenieść zawiesinę komórek do 15 ml probówki wirówkowej zawierającej 8 ml podłoża hodowlanego o temperaturze pokojowej, delikatnie mieszając.
6. Wirować mieszaninę z prędkością $300 \times g$ przez 3 minuty w celu oddzielenia komórek i ostrożnie odrzucić supernatant zawierający pozostałości pożywki do zamrażania.
7. Delikatnie ponownie zawiesić osad komórek w 10 ml świeżego podłoża hodowlanego. W przypadku komórek przylegających, rozdzielić zawiesinę pomiędzy dwie kolby hodowlane T25; w przypadku hodowli zawieszonych, przenieść całą pożywkę do jednej kolby T25 w celu promowania skutecznej interakcji i wzrostu komórek.
8. Przestrzegaj ustalonych protokołów podhodowli w celu ciągłego wzrostu i utrzymania linii komórkowej, zapewniając wiarygodne wyniki eksperymentów.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , nawilżona atmosfera.

Flask Coating

Brak

Freezing Procedure

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

komórki 3T3-L1 | 400107

Shipping Conditions

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiołki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Storage Conditions

W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiołki w ciekłym azocie w fazie lotnej w temperaturze od -150 do -196°C . Przechowywanie w temperaturze -80°C jest dopuszczalne tylko jako krótki etap przejściowy przed przeniesieniem do ciekłego azotu.

Kontrola jakości / Profil genetyczny / HLA

Sterility

Zanieczyszczenie mykoplazmą jest wykluczane przy użyciu zarówno testów opartych na PCR, jak i metod wykrywania mykoplazmy opartych na luminescencji.

Aby upewnić się, że nie ma zanieczyszczenia bakteriami, grzybami lub drożdżami, hodowle komórkowe są poddawane codziennym kontrolom wizualnym.