Product sheet

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 przeciwzapalne 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	Nie dotyczy (embrionalne preadipocyty; nie wywołujące nowotworów)
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	Mężczyzna
Morphology	Podobny do fibroblastów
Cell type	Preadipocyt / adipocyt (po różnicowaniu)
Growth properties	Adherent

Dane regulacyjne

Citation	3T3-L1 (numer katalogowy Cytion 400107)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	10090
CellosaurusAccession	CVCL_0123
GMO Status	Brak modyfikacji genetycznej; 3T3-L1 to subklon linii NIH/3T3 wyselekcjonowany pod kątem potencjału różnicowania adipogennego; brak wprowadzonego transgenu

Dane biomolekularne

Tumorigenic	Nie
Virus susceptibility	Wirus białaczki 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	Uzupełnić 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	od 1 do 5
Seeding density	od 1 do 3 × 10^4 komórek/cm^2
Fluid renewal	Co 2 do 3 dni
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 przepływowym, 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 x 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 zawiesinowych, 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%$_{CO2}$, 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 cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

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 fiolki do odpowiedniego miejsca przechowywania.
Storage Conditions	W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiolki 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 i analiza molekularna

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.