

INS-1-Zellen | 300471

Allgemeine Informationen

Description

Die INS-1-Zelllinie stammt von einem durch Röntgenstrahlen erzeugten transplantierbaren Insulinom bei Ratten. Da INS-1-Zellen eine hohe Konzentration an Insulin enthalten und auf Veränderungen des Glukosespiegels reagieren, werden sie häufig zur Untersuchung der Funktion von Betazellen verwendet. Wachstum und Hormonexpression sind abhängig von dem Reduktionsmittel 2-Mercaptoethanol.

INS-1-Zellen zeichnen sich durch ihre Heterogenität aus. Sie bestehen aus reifen, Insulin-positiven Zellen und unreifen, bi-hormonalen Zellen, die Insulin- und Glucagon-Proteine exprimieren.

Bi-hormonale INS-1-Zellen weisen eine geringere Nkx6.1-Expression auf und haben keine Alphazellmarker, was darauf hindeutet, dass sie nicht vollständig ausgereift sind. Darüber hinaus reduziert eine chronische Glukosestimulation die Insulin-Gen- und -Proteinexpression in INS-1-Zellen. Infolgedessen sind die Spiegel von Insulin und von Proglucagon abgeleiteten Peptiden wie GLP-1, GLP-2 und Glucagon reduziert.

Organism Ratte

Tissue Bauchspeicheldrüse, Langerhans-Inseln

Disease Insulinom der Ratte

Synonyms INS1

Merkmale

Breed/Subspecies NEDH

Age 666 Tage

Gender Männlich

Cell type Betazelle

Growth properties Adhärent

Regulatorische Daten

Citation INS-1 (Cytion Katalognummer 300471)

Biosafety level 1

INS-1-Zellen | 300471

NCBI_TaxID 10116**CellosaurusAccession** CVCL_0352**Biomolekulare Daten****Products** Insulin, Glutathion**Handhabung****Culture Medium** RPMI 1640, w: 2,0 mM stabiles Glutamin, w: 2,0 g/L NaHCO₃ (Cytion-Artikelnummer 820700a)**Supplements** Ergänzen Sie das Medium mit 10 % hitzeinaktiviertem FBS, fügen Sie 2,5 g/L Glukose und 10 mM HEPES**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Die Suspensionszellen in einem 15-ml-Röhrchen sammeln und die anhaftenden Zellen vorsichtig mit PBS ohne Kalzium und Magnesium waschen (3-5 ml für T25-Kolben und 5-10 ml für T75-Kolben verwenden). Accutase auftragen (1-2 ml für T25-Kolben, 2,5 ml für T75-Kolben), um sicherzustellen, dass die Zellschicht vollständig bedeckt ist. Die Zellen 10 Minuten lang bei Raumtemperatur inkubieren lassen. Nach der Inkubation sowohl die Suspension als auch die adhärennten Zellen mischen und zentrifugieren. Nach der Zentrifugation das Zellpellet vorsichtig resuspendieren und die Zellsuspension in neue Flaschen mit frischem Medium überführen.**Freeze medium** Als Kryokonservierungsmedium verwenden wir komplettes Wachstumsmedium (einschließlich FBS) + 10 % DMSO für eine angemessene Lebensfähigkeit nach dem Auftauen oder CM-1 (Cytion Katalognummer 800100), das optimierte Osmoprotektoren und Stoffwechselstabilisatoren enthält, um die Erholung zu verbessern und kryoinduzierten Stress zu reduzieren.

INS-1-Zellen | 300471

Thawing and Culturing Cells

1. Vergewissern Sie sich, dass das Fläschchen bei der Lieferung tiefgefroren ist, da die Zellen auf Trockeneis versandt werden, um während des Transports optimale Temperaturen zu erhalten.
2. Lagern Sie das Kryofläschchen nach Erhalt entweder sofort bei Temperaturen unter $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, um die Unversehrtheit der Zellen zu gewährleisten, oder fahren Sie mit Schritt 3 fort, wenn eine sofortige Kultivierung erforderlich ist.
3. Für eine sofortige Kultivierung tauen Sie das Fläschchen schnell auf, indem Sie es in ein 37°C warmes Wasserbad mit sauberem Wasser und einem antimikrobiellen Mittel eintauchen und 40-60 Sekunden lang vorsichtig schütteln, bis ein kleiner Eisklumpen zurückbleibt.
4. Führen Sie alle weiteren Schritte unter sterilen Bedingungen in einer Abzugshaube durch und desinfizieren Sie das Kryo-Fläschchen vor dem Öffnen mit 70%igem Ethanol.
5. Das desinfizierte Fläschchen vorsichtig öffnen und die Zellsuspension unter vorsichtigem Mischen in ein 15-ml-Zentrifugenröhrchen mit 8 ml Kulturmedium bei Raumtemperatur überführen.
6. Zentrifugieren Sie das Gemisch 3 Minuten lang bei $300 \times g$, um die Zellen abzutrennen, und werfen Sie den Überstand mit dem restlichen Gefriermedium vorsichtig.
7. Das Zellpellet vorsichtig in 10 ml frischem Kulturmedium resuspendieren. Bei adhären Zellen die Suspension auf zwei T25-Kulturflaschen aufteilen; bei Suspensionskulturen das gesamte Medium in eine T25-Flasche überführen, um eine effektive Zellinteraktion und ein effektives Wachstum zu fördern.
8. Halten Sie sich an die festgelegten Subkulturprotokolle, um ein kontinuierliches Wachstum und die Aufrechterhaltung der Zelllinie zu gewährleisten und zuverlässige Versuchsergebnisse zu erzielen.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , befeuchtete Atmosphäre.

Flask Coating

Keine

Freezing Procedure

Kryokonservierte Zelllinien werden auf Trockeneis in einer validierten, isolierten Verpackung mit ausreichend Kühlmittel versandt, um während des gesamten Transports eine Temperatur von etwa $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ aufrechtzuerhalten. Prüfen Sie den Behälter bei Erhalt sofort und bringen Sie die Fläschchen unverzüglich in ein geeignetes Lager.

INS-1-Zellen | 300471

Shipping Conditions

Kryokonservierte Zelllinien werden auf Trockeneis in einer validierten, isolierten Verpackung mit ausreichend Kühlmittel versandt, um während des gesamten Transports eine Temperatur von etwa -78 °C aufrechtzuerhalten. Prüfen Sie den Behälter bei Erhalt sofort und bringen Sie die Fläschchen unverzüglich in ein geeignetes Lager.

Storage Conditions

Zur Langzeitkonservierung werden die Fläschchen in flüssigem Stickstoff bei etwa -150 bis -196 °C gelagert. Eine Lagerung bei -80 °C ist nur als kurzer Zwischenschritt vor der Überführung in flüssigen Stickstoff akzeptabel.

Qualitätskontrolle / Genetisches Profil / HLA

Sterility

Eine Kontamination mit Mykoplasmen wird sowohl durch PCR-basierte Assays als auch durch lumineszenzbasierte Mykoplasmen-Nachweisverfahren ausgeschlossen.

Um sicherzustellen, dass keine Kontamination mit Bakterien, Pilzen oder Hefen vorliegt, werden die Zellkulturen täglich visuell überprüft.