Product sheet

Κύτταρα INS-1 | 300471

Γενικές πληροφορίες

Description	Η κυτταρική σειρά INS-1 προέρχεται από μεταμοσχεύσιμο ινσουλινώμα που δημιουργήθηκε με ακτίνες X σε αρουραίους. Επειδή τα κύτταρα INS-1 περιέχουν υψηλή συγκέντρωση ινσουλίνης και ανταποκρίνονται στις μεταβολές των επιπέδων γλυκόζης, χρησιμοποιούνται συχνά για τη μελέτη της λειτουργίας των β-κυττάρων. Η ανάπτυξη και η έκφραση της ορμόνης εξαρτώνται από τον αναγωγικό παράγοντα 2-μερκαπτοαιθανόλη. Τα κύτταρα INS-1 είναι αξιοσημείωτα για την ετερογένειά τους, αποτελούμενα από ώριμα ινσουλινοθετικά κύτταρα και ανώριμα δι-ορμονικά κύτταρα που εκφράζουν πρωτεΐνες ινσουλίνης και γλυκαγόνης. Τα δι-ορμονικά κύτταρα INS-1 έχουν χαμηλότερη έκφραση του Nkx6.1 και δεν διαθέτουν δείκτες άλφα κυττάρων, γεγονός που υποδηλώνει ότι δεν έχουν ωριμάσει πλήρως. Επιπλέον, η χρόνια διέγερση με γλυκόζη μειώνει την έκφραση γονιδίων και πρωτεϊνών ινσουλίνης στα κύτταρα INS-1. Ως εκ τούτου, τα επίπεδα της ινσουλίνης και των πεπτιδίων που προέρχονται από την προγλυκαγόνη, όπως το GLP-1, το GLP-2 και η γλυκαγόνη, είναι μειωμένα.
Organism	Αρουραίος
Tissue	Πάγκρεας, νησίδια του Langerhans
Disease	Ινσουλινώμα αρουραίου
Synonyms	INS1

Χαρακτηριστικά

Breed/Subspecies	NEDH
Age	666 ημέρες
Gender	Άντρας
Cell type	Βήτα κύτταρο
Growth properties	Προσκολλημένο

Ρυθμιστικά δεδομένα

Citation	INS-1 (αριθμός καταλόγου Cytion 300471)
Biosafety level	1

Κύτταρα INS-1 | 300471

NCBI_TaxID	10116
CellosaurusAccession	CVCL_0352

Βιομοριακά δεδομένα

Products	Ινσουλίνη, γλουταθειόνη

Χειρισμός

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM σταθερής γλουταμίνης, w: 2,0 g/L NaHCO3 (αριθμός άρθρου Cytion 820700a)
Supplements	Συμπληρώστε το μέσο με 10% FBS που έχει απενεργοποιηθεί με θερμότητα, προσθέστε 2,5 g/L γλυκόζης και 10 mM HEPES
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Συγκεντρώστε τα εναιωρήματα σε ένα σωληνάριο των 15 ml και πλύνετε απαλά τα προσκολλημένα κύτταρα με PBS χωρίς ασβέστιο και μαγνήσιο (χρησιμοποιήστε 3-5 ml για φιάλες T25 και 5-10 ml για φιάλες T75). Εφαρμόστε Accutase (1-2 ml για φιάλες T25, 2,5 ml για φιάλες T75) εξασφαλίζοντας πλήρη κάλυψη της κυτταρικής στιβάδας. Αφήστε τα κύτταρα να επωαστούν σε θερμοκρασία δωματίου για 10 λεπτά. Μετά την επώαση, συνδυάστε και φυγοκεντρίστε τόσο το εναιώρημα όσο και τα προσκολλημένα κύτταρα. Μετά τη φυγοκέντρηση, ανασυγκεντρώστε προσεκτικά το κυτταρικό σφαιρίδιο και μεταφέρετε το εναιώρημα κυττάρων σε νέες φιάλες που περιέχουν φρέσκο μέσο.
Freeze medium	Ως μέσο κρυοσυντήρησης, χρησιμοποιούμε πλήρες μέσο ανάπτυξης (συμπεριλαμβανομένου του FBS) + 10% DMSO για επαρκή βιωσιμότητα μετά την απόψυξη, ή CM-1 (αριθμός καταλόγου Cytion 800100), το οποίο περιλαμβάνει βελτιστοποιημένα ωσμοπροστατευτικά και μεταβολικούς σταθεροποιητές για την ενίσχυση της ανάκαμψης και τη μείωση του στρες που προκαλείται από την κρυοσυντήρηση.

Thawing and Culturing Cells

1. Επιβεβαιώστε ότι το φιαλίδιο παραμένει βαθιά παγωμένο κατά την παράδοση, καθώς τα κύτταρα αποστέλλονται σε ξηρό πάγο για να διατηρούνται οι βέλτιστες θερμοκρασίες κατά τη μεταφορά.

2. Κατά την παραλαβή, είτε αποθηκεύστε το κρυοφιαλίδιο αμέσως σε θερμοκρασίες κάτω των -150°C για να διασφαλίσετε τη διατήρηση της κυτταρικής ακεραιότητας, είτε προχωρήστε στο βήμα 3 εάν απαιτείται άμεση καλλιέργεια.

3. Για άμεση καλλιέργεια, αποψύξτε γρήγορα το φιαλίδιο βυθίζοντάς το σε υδατόλουτρο 37°C με καθαρό νερό και αντιμικροβιακό παράγοντα, αναδεύοντας απαλά για 40-60 δευτερόλεπτα μέχρι να παραμείνει ένα μικρό σβόλο πάγου.

4. Εκτελέστε όλα τα επόμενα βήματα υπό αποστειρωμένες συνθήκες σε απορροφητήρα ροής, απολυμαίνοντας το κρυοφιαλίδιο με 70% αιθανόλη πριν από το άνοιγμα.

5. Ανοίξτε προσεκτικά το απολυμασμένο φιαλίδιο και μεταφέρετε το εναιώρημα των κυττάρων σε ένα σωληνάριο φυγοκέντρησης των 15 ml που περιέχει 8 ml θρεπτικού μέσου καλλιέργειας σε θερμοκρασία δωματίου, αναμειγνύοντας απαλά.

6. Φυγοκεντρίστε το μείγμα στα 300 x g για 3 λεπτά για να διαχωριστούν τα κύτταρα και απορρίψτε προσεκτικά το υπερκείμενο που περιέχει το υπόλοιπο μέσο κατάψυξης.

7. Επανασυσσωματώστε απαλά το κυτταρικό σφαιρίδιο σε 10 ml φρέσκου μέσου καλλιέργειας. Για προσκολλημένα κύτταρα, μοιράστε το εναιώρημα σε δύο φιάλες καλλιέργειας T25- για καλλιέργειες εναιωρήματος, μεταφέρετε όλο το μέσο σε μία φιάλη T25 για να προωθήσετε την αποτελεσματική αλληλεπίδραση και ανάπτυξη των κυττάρων.

8. Τηρείτε τα καθιερωμένα πρωτόκολλα υποκαλλιέργειας για τη συνεχή ανάπτυξη και διατήρηση της κυτταρικής σειράς, εξασφαλίζοντας αξιόπιστα πειραματικά αποτελέσματα.

Incubation Atmosphere

37°C, 5%$_{CO2}$, υγροποιημένη ατμόσφαιρα.

Flask Coating

Κανένα

Freezing Procedure

Οι κρυοσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των -78 °C καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.

Κύτταρα INS-1 | 300471

Shipping Conditions	Οι κρυοσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των -78 °C καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.
Storage Conditions	Για μακροχρόνια συντήρηση, τοποθετήστε τα φιαλίδια σε υγρό άζωτο σε φάση ατμών σε θερμοκρασία περίπου -150 έως -196 °C. Η αποθήκευση στους -80 °C είναι αποδεκτή μόνο ως σύντομο ενδιάμεσο βήμα πριν από τη μεταφορά σε υγρό άζωτο.

Έλεγχος ποιότητας και μοριακή ανάλυση

Sterility	Η μόλυνση από μυκόπλασμα αποκλείεται με τη χρήση τόσο των δοκιμασιών που βασίζονται στην PCR όσο και των μεθόδων ανίχνευσης μυκοπλάσματος με βάση τη φωταύγεια. Για να διασφαλιστεί ότι δεν υπάρχει μόλυνση από βακτήρια, μύκητες ή ζύμες, οι κυτταροκαλλιέργειες υποβάλλονται σε καθημερινές οπτικές επιθεωρήσεις.