Product sheet

INS-1 rakud | 300471

Üldine teave

Description	INS-1 rakuliin on saadud rottide röntgenikiirusel tekitatud siirdatavast insulinoomist. Kuna INS-1 rakud sisaldavad suure kontsentratsiooniga insuliini ja reageerivad glükoositaseme muutustele, kasutatakse neid sageli beetarakkude funktsiooni uurimiseks. Kasv ja hormooni ekspressioon sõltuvad redutseerivast ainest 2-merkaptoetanoolist. INS-1 rakud paistavad silma oma heterogeensuse poolest, koosnedes küpsetest insuliinipositiivsetest rakkudest ja ebaküpsetest bi-hormonaalsetest rakkudest, mis ekspresseerivad insuliini ja glükagooni valke. Bi-hormonaalsetel INS-1 rakkudel on madalam Nkx6.1 ekspressioon ja neil puuduvad alfarakkude markerid, mis näitab, et nad ei ole täielikult küpsenud. Lisaks vähendab krooniline glükoosistimulatsioon INS-1 rakkudes insuliini geeni ja valgu ekspressiooni. Seega väheneb insuliini ja proglükagoni tuletatud peptiidide, nagu GLP-1, GLP-2 ja glükagoni tase.
Organism	Rott
Tissue	Pankreas, Langerhansi saarekesed
Disease	Rottide insulinoom
Synonyms	INS1

Omadused

Breed/Subspecies	NEDH
Age	666 päeva
Gender	Mees
Cell type	Beeta rakk
Growth properties	Kinnipeetav

Regulatiivsed andmed

Citation	INS-1 (Cytioni kataloginumber 300471)
Biosafety level	1

INS-1 rakud | 300471

NCBI_TaxID	10116
CellosaurusAccession	CVCL_0352

Biomolekulaarsed andmed

Products	Insuliin, glutatioon

Töötlemine

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM stabiilne glutamiin, w: 2,0 g/L NaHCO3 (Cytioni artikli number 820700a)
Supplements	Täiendada söötme 10% soojusinaktiveeritud FBS-iga, lisada 2,5 g/l glükoosi ja 10 mM HEPES
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Koguge suspensioonirakud 15 ml tuubi ja peske kleepunud rakud ettevaatlikult PBS-ga, milles puudub kaltsium ja magneesium (kasutage 3-5 ml T25 kolbide puhul ja 5-10 ml T75 kolbide puhul). Kandke Accutase'i (1-2 ml T25 kolvidesse, 2,5 ml T75 kolvidesse), tagades rakukihi täieliku katvuse. Laske rakkudel 10 minutit toatemperatuuril inkubeerida. Pärast inkubeerimist ühendage ja tsentrifuugige nii suspensioon kui ka adherentsed rakud. Pärast tsentrifuugimist resuspendeerige rakupellet ettevaatlikult ja kandke rakususpensioon uutesse kolvidesse, mis sisaldavad värsket söötmeainet.
Freeze medium	Krüosäilitusvedelikusena kasutame täielikku kasvukeskkonda (sh FBS) + 10% DMSO, et tagada piisav elujõulisus pärast sulatamist, või CM-1 (Cytioni kataloginumber 800100), mis sisaldab optimeeritud osmoprotektante ja metaboolseid stabilisaatoreid, et parandada taastumist ja vähendada krüostressi.

INS-1 rakud | 300471

Thawing and Culturing Cells

1. Veenduge, et viaal jääb tarnimisel sügavkülmutatud, sest rakud transporditakse kuiva jääga, et säilitada optimaalne temperatuur transpordi ajal.
2. Pärast kättesaamist säilitage krüoviaal kas kohe temperatuuril alla -150 °C, et tagada rakkude terviklikkuse säilimine, või jätkake sammuga 3, kui on vaja koheselt kultiveerida.
3. Kohese kultiveerimise korral sulatage viaali kiiresti, kastes selle 37 °C veevanni puhta vee ja antimikroobse ainega, segades seda õrnalt 40-60 sekundit, kuni alles jääb väike jääklomp.
4. Tehke kõik järgmised toimingud steriilsetes tingimustes vooluhoodis, desinfitseerides krüoviaal enne avamist 70% etanooliga.
5. Avage desinfitseeritud viaali ettevaatlikult ja viige rakususpensioon ettevaatlikult segades 15 ml tsentrifuugitorusse, mis sisaldab 8 ml toatemperatuuril olevat kasvukeskkonda.
6. Rakkude eraldamiseks tsentrifuugige segu 300 x g juures 3 minutit ja visake ülejäänud külmutusvedelikku sisaldav supernatant ettevaatlikult ära.
7. Resuspendeerige rakupellet ettevaatlikult 10 ml värskes kasvukeskkonnas. Adhereeruvate rakkude puhul jagage suspensioon kahe T25 kultuurkolvi vahel; suspensioonikultuuride puhul kandke kogu söötmekeskkond ühte T25 kolbi, et soodustada rakkude tõhusat koostoimet ja kasvu.
8. Järgige kehtestatud subkultuuriprotokolle rakuliini jätkuvaks kasvuks ja säilitamiseks, tagades usaldusväärsed katsetulemused.

Incubation Atmosphere	37°C, 5% $_{CO2}$, niisutatud atmosfäär.
Flask Coating	Puudub
Freezing Procedure	Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu -78 °C. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige viaalid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.
Shipping Conditions	Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu -78 °C. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige viaalid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

Storage Conditions	Pikaajaliseks säilitamiseks asetage viaalid aurufaasis vedela lämmastikuga umbes -150 kuni -196 °C juures. Säilitamine temperatuuril -80 °C on vastuvõetav ainult lühikese vaheetapina enne vedela lämmastikuga üleviimist.

Kvaliteedikontroll ja molekulaaranalüüs

Sterility	Mükoplasmakontaminatsioon on välistatud nii PCR-põhiste analüüside kui ka luminestsentsil põhinevate mükoplasma tuvastamise meetodite abil. Bakteriaalse, seene- või pärmsaaste puudumise tagamiseks kontrollitakse rakukultuure iga päev visuaalselt.