

INS-1-solut | 300471

Yleisiä tietoja

Description

INS-1-solulinja on peräisin rotilla röntgensäteilyllä aikaansaadusta siirrettävästä insulinoomasta. Koska INS-1-solut sisältävät runsaasti insuliinia ja reagoivat glukosipitoisuuden muutoksiin, niitä käytetään usein beetasolujen toiminnan tutkimiseen. Kasvu ja hormonin ilmentyminen ovat riippuvaisia pelkistävästä aineesta 2-merkaptotoetanolista.

INS-1-solut ovat huomattavan heterogeenisiä, sillä ne koostuvat kypsistä insuliiniposiitivisista soluista ja epäkypsistä bi-hormonaalisista soluista, jotka ilmentävät insuliini- ja glukagoniproteiineja.

Bi-hormonaalisilla INS-1-soluilla on vähäisempi Nkx6.1:n ilmentyminen, ja niiltä puuttuvat alfasolujen merkkiaineet, mikä osoittaa, että ne eivät ole täysin kypsyneitä. Lisäksi krooninen glukosistimulaatio vähentää insuliinigeenin ja -proteiinin ilmentymistä INS-1-soluissa. Näin ollen insuliinin ja proglukagonista peräisin olevien peptidien, kuten GLP-1:n, GLP-2:n ja glukagonin pitoisuudet vähenevät.

Organism Rotta

Tissue Haima, Langerhansin saarekkeet

Disease Rotan insulinoma

Synonyms INS1

Ominaisuudet

Breed/Subspecies NEDH

Age 666 päivää

Gender Mies

Cell type Beetasolu

Growth properties Tarttuva

Säätelytiedot

Citation INS-1 (Cytionin luettelnumero 300471)

Biosafety level 1

INS-1-solut | 300471

NCBI_TaxID 10116**CellosaurusAccession** CVCL_0352**Biomolekyylitiedot****Products** Insuliini, glutationi**Käsittely****Culture Medium** RPMI 1640, w: 2,0 mM stabiilia glutamiinia, w: 2,0 g/L NaHCO₃ (Cytionin artikkelinumero 820700a)**Supplements** Täydennetään väliaine 10 % lämpöinaktivoidulla FBS:llä, lisätään 2,5 g/l glukoosia ja 10 mM HEPES**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Kerää suspensiosolut 15 ml:n putkeen ja pese kiinni olevat solut varovasti PBS:llä, josta puuttuu kalsiumia ja magnesiumia (3-5 ml T25-pulloissa ja 5-10 ml T75-pulloissa). Levitä Accutasea (1-2 ml T25-pulloihin, 2,5 ml T75-pulloihin) varmistaen, että solukerros peittyy kokonaan. Anna solujen inkuboitua huoneenlämmössä 10 minuuttia. Inkuboinnin jälkeen yhdistetään ja sentrifugoidaan sekä suspensio että adherentit solut. Sentrifugoinnin jälkeen solupelletti suspendoidaan varovasti uudelleen ja siirretään solususpensio uusiin pulloihin, jotka sisältävät tuoretta väliaineita.**Freeze medium** Kryosäilytysmediana käytämme täydellistä kasvualustaa (mukaan lukien FBS) + 10 % DMSO:ta riittävän sulatuksen jälkeisen elinkelpoisuuden varmistamiseksi tai CM-1:tä (Cytionin luettelonumero 800100), joka sisältää optimoituja osmoprotectantteja ja metabolisia stabilisaattoreita, jotka parantavat elpymistä ja vähentävät kryosäilytyksen aiheuttamaa stressiä.

INS-1-solut | 300471

Thawing and Culturing Cells

1. Varmista, että injektiopullo pysyy syväjäädetyttynä toimitettaessa, sillä solut kuljetetaan kuivajäädessä, jotta optimaalinen lämpötila säilyy kuljetuksen aikana.
2. Vastaanotettaessa kryopullo joko säilytetään välittömästi alle -150 °C:n lämpötilassa solujen eheyden säilyttämiseksi tai edetään vaiheeseen 3, jos tarvitaan välitöntä viljelyä.
3. Välitöntä viljelyä varten sulata injektiopullo nopeasti upottamalla se 37 °C:n vesihauteeseen, jossa on puhdasta vettä ja antimikrobista ainetta, ja sekoittamalla sitä varovasti 40-60 sekunnin ajan, kunnes jäädästä on jäljellä pieni jäämöhkäle.
4. Suorita kaikki seuraavat vaiheet steriileissä olosuhteissa virtaushupussa ja desinfioi kryopullo 70-prosenttisellä etanolilla ennen avaamista.
5. Avaa desinfioitu injektiopullo varovasti ja siirrä solususpensio 15 ml:n sentrifugiputkeen, joka sisältää 8 ml huoneenlämpöistä elatusainetta, varovasti sekoittaen.
6. Sentrifugoi seosta 300 x g:n voimakkuudella 3 minuutin ajan solujen erottamiseksi ja hävitä varovasti supernatantti, joka sisältää jäännöspakastusmediumia.
7. Suspendoidaan solupelletti varovasti uudelleen 10 ml:aan tuoretta elatusainetta. Jos solut ovat tarttuvia, jaa suspensio kahden T25-kolvin kesken; jos kyseessä ovat suspensioviljelmät, siirrä kaikki väliaine yhteen T25-kolviin solujen tehokkaan vuorovaikutuksen ja kasvun edistämiseksi.
8. Noudata vakiintuneita aliviljelyprotokollia solulinjan jatkuvan kasvun ja ylläpidon varmistamiseksi ja luotettavien kokeellisten tulosten varmistamiseksi.

Incubation Atmosphere

37 °C, 5 % CO_2 , kostutettu ilmakehä.

Flask Coating

Ei mitään

Freezing Procedure

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäädessä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

Shipping Conditions

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäädessä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

INS-1-solut | 300471

**Storage
Conditions**

Pitkäaikaissäilytystä varten injektiopullot asetetaan höyryfaasissa olevaan nestemäiseen tyypeen noin -150 - -196 °C:een. Säilytys -80 °C:ssa on hyväksyttävää vain lyhyenä välivaiheena ennen siirtoa nestemäiseen tyypeen.

Laadunvalvonta / Geneettinen profiili / HLA

Sterility

Mykoplasmakontaminaatio suljetaan pois sekä PCR-pohjaisilla määrittelyillä että luminesenssiin perustuvilla mykoplasman osoitusmenetelmillä.

Bakteeri-, sieni- tai hiivakontaminaation välttämiseksi soluviljelmät tarkastetaan päivittäin silmämääräisesti.