Product sheet

Cellules INS-1 | 300471

Informations générales

Description	La lignée cellulaire INS-1 est dérivée d'un insulinome transplantable créé par rayons X chez le rat. Comme les cellules INS-1 contiennent une forte concentration d'insuline et réagissent aux variations du taux de glucose, elles sont fréquemment utilisées pour étudier la fonction des cellules bêta. La croissance et l'expression de l'hormone dépendent de l'agent réducteur 2-mercaptoéthanol. Les cellules INS-1 se distinguent par leur hétérogénéité, composée de cellules matures insulino-positives et de cellules immatures bi-hormonales exprimant les protéines de l'insuline et du glucagon. Les cellules INS-1 bi-hormonales ont une faible expression de Nkx6.1 et manquent de marqueurs de cellules alpha, ce qui indique qu'elles ne sont pas complètement matures. En outre, la stimulation chronique par le glucose réduit l'expression des gènes et des protéines de l'insuline dans les cellules INS-1. Ainsi, les niveaux d'insuline et de peptides dérivés du proglucagon comme le GLP-1, le GLP-2 et le glucagon sont réduits.
Organism	Rat
Tissue	Pancréas, îlots de Langerhans
Disease	Insulinome de rat
Synonyms	INS1

Caractéristiques

Breed/Subspecies	NEDH
Age	666 jours
Gender	Homme
Cell type	Cellule bêta
Growth properties	Adhérent

Données réglementaires

Citation	INS-1 (numéro de catalogue Cytion 300471)
Biosafety level	1

Cellules INS-1 | 300471

NCBI_TaxID	10116
CellosaurusAccession	CVCL_0352

Données biomoléculaires

Products	Insuline, glutathion

Manipulation

Culture Medium	RPMI 1640, w : 2.0 mM Glutamine stable, w : 2.0 g/L NaHCO3 (numéro d'article Cytion 820700a)
Supplements	Compléter le milieu avec 10% de FBS inactivé à la chaleur, ajouter 2,5 g/L de glucose et 10 mM d'HEPES
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Rassembler les cellules en suspension dans un tube de 15 ml et laver délicatement les cellules adhérentes avec du PBS dépourvu de calcium et de magnésium (utiliser 3-5 ml pour les flacons T25 et 5-10 ml pour les flacons T75). Appliquer Accutase (1-2 ml pour les flacons T25, 2,5 ml pour les flacons T75) en veillant à couvrir entièrement la couche cellulaire. Laisser les cellules incuber à température ambiante pendant 10 minutes. Après l'incubation, combiner et centrifuger la suspension et les cellules adhérentes. Après centrifugation, remettre soigneusement en suspension le culot cellulaire et transférer la suspension cellulaire dans de nouveaux flacons contenant du milieu frais.
Freeze medium	Comme milieu de cryoconservation, nous utilisons un milieu de croissance complet (comprenant du FBS) + 10 % de DMSO pour une viabilité adéquate après décongélation, ou CM-1 (numéro de catalogue 800100 de Cytion), qui comprend des osmoprotectants et des stabilisateurs métaboliques optimisés pour améliorer la récupération et réduire le stress induit par la cryogénisation.

Cellules INS-1 | 300471

Thawing and Culturing Cells

1. Confirmer que le flacon est toujours congelé à la livraison, car les cellules sont expédiées sur de la glace sèche pour maintenir des températures optimales pendant le transport.

2. Dès réception, soit conserver immédiatement le cryovial à des températures inférieures à -150°C pour assurer la préservation de l'intégrité cellulaire, soit passer à l'étape 3 si une mise en culture immédiate est nécessaire.

3. Pour une mise en culture immédiate, décongeler rapidement le flacon en l'immergeant dans un bain-marie à 37°C avec de l'eau propre et un agent antimicrobien, en l'agitant doucement pendant 40 à 60 secondes jusqu'à ce qu'il ne reste qu'un petit amas de glace.

4. Effectuer toutes les étapes suivantes dans des conditions stériles sous une hotte à flux, en désinfectant le cryovial avec de l'éthanol à 70 % avant de l'ouvrir.

5. Ouvrir soigneusement le flacon désinfecté et transférer la suspension cellulaire dans un tube à centrifuger de 15 ml contenant 8 ml de milieu de culture à température ambiante, en mélangeant doucement.

6. Centrifuger le mélange à 300 x g pendant 3 minutes pour séparer les cellules et jeter soigneusement le surnageant contenant le milieu de congélation résiduel.

7. Remettre doucement en suspension le culot cellulaire dans 10 ml de milieu de culture frais. Pour les cellules adhérentes, répartir la suspension entre deux flacons de culture T25 ; pour les cultures en suspension, transférer tout le milieu dans un seul flacon T25 afin de favoriser une interaction et une croissance efficaces des cellules.

8. Respecter les protocoles de sous-culture établis pour une croissance et un entretien continus de la lignée cellulaire, garantissant ainsi des résultats expérimentaux fiables.

Incubation Atmosphere

37°C, 5%$_{CO2}$, atmosphère humidifiée.

Flask Coating

Aucun

Freezing Procedure

Les lignées cellulaires cryoconservées sont expédiées sur glace sèche dans des emballages isolés et validés, avec suffisamment de réfrigérant pour maintenir une température d'environ -78 °C tout au long du transport. À la réception, inspecter immédiatement le conteneur et transférer sans délai les flacons dans un lieu de stockage approprié.

Shipping Conditions	Les lignées cellulaires cryoconservées sont expédiées sur glace sèche dans des emballages isolés et validés, avec suffisamment de réfrigérant pour maintenir une température d'environ -78 °C tout au long du transport. À la réception, inspecter immédiatement le conteneur et transférer sans délai les flacons dans un lieu de stockage approprié.
Storage Conditions	Pour une conservation à long terme, placer les flacons dans de l'azote liquide en phase vapeur à une température comprise entre -150 et -196 °C environ. Le stockage à -80 °C n'est acceptable qu'en tant qu'étape intermédiaire de courte durée avant le transfert dans l'azote liquide.

Contrôle qualité et analyse moléculaire

Sterility	La contamination par les mycoplasmes est exclue à l'aide de tests basés sur la PCR et de méthodes de détection des mycoplasmes basées sur la luminescence. Pour s'assurer de l'absence de contamination bactérienne, fongique ou levurienne, les cultures cellulaires font l'objet d'inspections visuelles quotidiennes.