

MIN-6 ląstelės | 302148

Bendra informacija

Description

MIN-6 ląstelių linija - tai iš insulinomos išvesta pelių kasos beta ląstelių linija. Dėl gebėjimo sintetinti ir išskirti insuliną, reaguojant į gliukozės kiekį, ji dažniausiai naudojama moksliniuose tyrimuose insulino sekrecijos mechanizmams ir beta ląstelių funkcijai tirti. Ši ląstelių linija ypač vertinga, nes išlaiko daugelį pirminių kasos beta ląstelių funkcinių savybių, todėl yra naudingas diabeto tyrimų modelis.

MIN-6 ląstelės pasižymi į gliukozę reaguojančia insulino sekrecija, o tai yra labai svarbi savybė tyrimams, kuriuose daugiausia dėmesio skiriama insulino išsiskyrimo reguliavimui ir ląstelių atsakui į skirtingą gliukozės koncentraciją. Šios ląstelės taip pat naudojamos kasos beta ląstelių proliferacijai ir apoptozei bei įvairių genų ir aplinkos veiksnių vaidmeniui šiuose procesuose tirti. Be to, MIN-6 ląstelės buvo naudingos tiriant galimų farmakologinių medžiagų poveikį beta ląstelių funkcijai ir išgyvenamumui, taip prisidedant prie naujų diabeto gydymo strategijų kūrimo.

Organism

Pelė

Tissue

Kasa, Langerhanso salelės

Disease

Pelės insulinoma

Synonyms

Min6, MIN6, Pelės INsulinoma 6

Charakteristikos

Breed/Subspecies

C57BL/6 IT6 transgeninis

Age

13 savaičių

Gender

Nenustatyta

Cell type

Beta ląstelė

Growth properties

Prigludęs

Reguliavimo duomenys

Citation

MIN-6 (Cytion katalogo numeris 302148)

Biosafety level

1

MIN-6 ląstelės | 302148

NCBI_TaxID 10090

CellosaurusAccession CVCL_0431

GMO Status GMO-S1: Šioje pelių kasos β ląstelių linijoje (MIN-6) yra SV40 T-Antigen transgenas, kontroliuojamas insulino promotoriaus, gauto iš transgeninės pelės modelio, kuris padeda atlikti imortalizacijos ir su insulinu susijusių tyrimus. Konstruktas yra stabiliai integruotas. Ši klasifikacija taikoma tik Vokietijoje ir gali skirtis kitose šalyse.

Biomolekuliniai duomenys

Protein expression Insulinas, gliukagonas, somatostatinas, grelinas

Viruses Transformantas: Simiano virusas 40 (SV40)

Tvarkymas

Culture Medium DMEM, š: 4,5 g/l gliukozės, š: 4 mM L-glutamino, š: 3,7 g/l NaHCO₃, š: 1,0 mM natrio piruvato (Cytion gaminio numeris 820300a)

Supplements Papildykite terpę 15 % šiluma inaktyvuotu FBS, 50 μM beta-merkaptioetanoliu.

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Išmeskite seną terpę ir nuplaukite ląsteles PBS. Įpilkite šviežiai paruošto 0,025 % tripsino/0,02 % EDTA tirpalo, pašildyto iki 37 °C temperatūros, ir palaukite, kol ląstelės atsiskirs (paprastai tai trunka apie 5 minutes). Neutralizuokite tripsiną, įpilkite šviežios terpės, tada perkelti ląstelių mišinį į mėgintuvėlį ir centrifuguokite. Po centrifugavimo pašalinkite supernatantą, ląstelių granules vėl sutirpinkite šviežioje terpėje ir perpilkite suspensiją į naujas kolbas.

Seeding density 5×10^4 ląstelės/cm²

Freeze medium Kaip kriokonservavimo terpę naudojame visišką augimo terpę (įskaitant FBS) + 10 % DMSO, kad būtų užtikrintas tinkamas gyvybingumas po atšildymo, arba CM-1 (Cytion katalogo numeris 800100), kurioje yra optimizuotų osmoprotektorių ir medžiagų apykaitos stabilizatorių, kad būtų pagerintas atsigavimas ir sumažintas kriokonservavimo sukeltas stresas.

MIN-6 ląstelės | 302148

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Patikrinkite, ar pristatant buteliuką jis išlieka gerai užšaldytas, nes ląstelės gabenamos ant sauso ledo, kad gabenimo metu būtų palaikoma optimali temperatūra.
2. Gavę iš karto laikykite kriovialą žemesnėje nei -150°C temperatūroje, kad užtikrintumėte ląstelių vientisumo išsaugojimą, arba pereikite prie 3 veiksmo, jei reikia nedelsiant kultivuoti.
3. Jei norite nedelsiant pradėti kultivuoti, greitai atšildykite buteliuką panardindami jį į 37°C temperatūros vandens vonelę su švriu vandeniu ir antimikrobine priemone, švelniai maišydami 40-60 sekundžių, kol liks nedidelis ledo gabalėlis.
4. Visus tolesnius veiksmus atlikite steriliomis sąlygomis srauto gaubte, prieš atidarydami kriovialą dezinfekuokite jį 70 % etanoliu.
5. Atsargiai atidarykite dezinfekuotą buteliuką ir perpilkite ląstelių suspensiją į 15 ml centrifugos mėgintuvėlį, kuriame yra 8 ml kambario temperatūros mitybinės terpės, atsargiai išmaišykite.
6. Mišinį centrifuguokite $300 \times g$ greičiu 3 minutes, kad atsiskirtų ląstelės, ir atsargiai išmeskite supernatantą su šaldymo terpės likučiais.
7. Švelniai resuspenduokite ląstelių granules 10 ml šviežios mitybinės terpės. Jei ląstelės yra prigludusios, suspensiją padalykite į dvi T25 kolbas; jei tai suspensinės kultūros, visą terpę perkelti į vieną T25 kolbą, kad paskatintumėte veiksmingą ląstelių sąveiką ir augimą.
8. Laikykitės nustatytų subkultūrų protokolų, kad ląstelių linija nuolat augtų ir būtų palaikoma, taip užtikrinant patikimus eksperimentų rezultatus.

**Incubation
Atmosphere**

37°C , 5 % CO_2 , drėkintoje atmosferoje.

Flask Coating

Nėra

**Freezing
Procedure**

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug -78°C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelti mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

**Shipping
Conditions**

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug -78°C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelti mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

MIN-6 ląstelės | 302148

Storage Conditions

Norėdami ilgai saugoti, įdėkite buteliukus į garų fazės skystą azotą maždaug -150-196 °C temperatūroje.
Laikymas -80 °C temperatūroje yra priimtinas tik kaip trumpas tarpinis etapas prieš perkeliant į skystąjį azotą.

Kokybės kontrolė ir molekulinė analizė

Sterility

Mikoplazmos užterštumas atmetamas taikant PGR pagrįstus tyrimus ir liuminescencinius mikoplazmos aptikimo metodus.

Siekiant užtikrinti, kad nebūtų užteršimo bakterijomis, grybeliais ar mielėmis, ląstelių kultūros kasdien vizualiai tikrinamos.