

INS-1 Cellen | 300471

Algemene informatie

Description

De INS-1 cellijn is afgeleid van een door röntgenstraling gecreëerd transplanteerbaar insulinoom bij ratten. Omdat INS-1 cellen een hoge concentratie insuline bevatten en reageren op veranderingen in de glucosespiegel, worden ze vaak gebruikt om de functie van bètacellen te bestuderen. Groei en hormoonexpressie zijn afhankelijk van het reductiemiddel 2-mercaptoethanol.

INS-1 cellen vallen op door hun heterogeniteit, bestaande uit rijpe insuline-positieve cellen en onrijpe bi-hormonale cellen die insuline en glucagon-eiwitten tot expressie brengen.

Bi-hormonale INS-1 cellen hebben een lagere Nkx6.1 expressie en missen alfa cel markers, wat aangeeft dat ze niet volledig volgroeid zijn. Bovendien vermindert chronische glucosestimulatie de insuline gen- en eiwitexpressie in INS-1 cellen. Als gevolg hiervan zijn de insuline- en proglucagon-afgeleide peptiden zoals GLP-1, GLP-2 en glucagon niveaus verlaagd.

Organism

Rat

Tissue

Alvleesklier, eilandjes van Langerhans

Disease

Insulinoom bij ratten

Synonyms

INS1

Kenmerken

Breed/Subspecies

NEDH

Age

666 dagen

Gender

Mannelijk

Cell type

Bètacel

Growth properties

Aanhangend

Regelgevende gegevens

Citation

INS-1 (Cytion catalogusnummer 300471)

Biosafety level

1

INS-1 Cellen | 300471

NCBI_TaxID 10116**CellosaurusAccession** CVCL_0352

Biomoleculaire gegevens

Products Insuline, glutathion

Omgaan met

Culture Medium RPMI 1640, w: 2,0 mM stabiele Glutamine, w: 2,0 g/L NaHCO₃ (Cytion artikelnummer 820700a)**Supplements** Vul het medium aan met 10% hitte-geïnactiveerde FBS, voeg 2,5 g/L glucose en 10 mM HEPES toe**Dissociation Reagent** Accutase

Subculturing Verzamel de suspensiecellen in een buis van 15 ml en was de aanhangende cellen voorzichtig met PBS zonder calcium en magnesium (gebruik 3-5 ml voor T25-flesjes en 5-10 ml voor T75-flesjes). Breng Accutase aan (1-2 ml voor T25-flesjes, 2,5 ml voor T75-flesjes) en zorg dat de cellaag volledig bedekt wordt. Laat de cellen 10 minuten bij kamertemperatuur incuberen. Na de incubatie zowel de suspensie als de aanhangende cellen combineren en centrifugeren. Na het centrifugeren de celpellet voorzichtig resuspenderen en de celsuspensie overbrengen in nieuwe kolven met vers medium.

Freeze medium Als cryoconserveringsmedium gebruiken we volledig groeimedum (inclusief FBS) + 10% DMSO voor voldoende levensvatbaarheid na het ontdooien, of CM-1 (Cytion catalogusnummer 800100), dat geoptimaliseerde osmoprotectanten en metabolische stabilisatoren bevat om het herstel te verbeteren en door cryo geïnduceerde stress te verminderen.

INS-1 Cellen | 300471

Thawing and Culturing Cells

1. Controleer of de flacon bij levering diepgevroren blijft, aangezien de cellen op droog ijs worden verzonden om optimale temperaturen tijdens het transport te behouden.
2. Bewaar het cryoflesje na ontvangst onmiddellijk bij temperaturen lager dan -150 °C om de integriteit van de cellen te behouden, of ga verder met stap 3 als onmiddellijke kweek vereist is.
3. Voor onmiddellijke kweek: ontdooi de flacon snel door deze onder te dompelen in een waterbad van 37 °C met schoon water en een antimicrobieel middel, waarbij u 40-60 seconden zachtjes schudt totdat er een klein ijsklontje overblijft.
4. Voer alle volgende stappen uit onder steriele omstandigheden in een stromingskap en desinfecteer de cryoflacon met 70% ethanol voordat deze wordt geopend.
5. Open voorzichtig de gedesinfecteerde flacon en breng de celsuspensie over in een centrifugebuis van 15 ml met 8 ml kweekmedium op kamertemperatuur en meng voorzichtig.
6. Centrifugeer het mengsel gedurende 3 minuten bij 300 x g om de cellen te scheiden en gooi het supernatant met resterend vriesmedium voorzichtig weg.
7. Resuspendeer de celpellet voorzichtig in 10 ml vers kweekmedium. Verdeel voor adherente cellen de suspensie over twee T25-kweekkolven; breng voor suspensiekweken al het medium over in één T25-kweekkolf om effectieve celinteractie en -groei te bevorderen.
8. Houd u aan de vastgestelde subcultuurprotocollen voor continue groei en onderhoud van de cellijn, om betrouwbare experimentele resultaten te garanderen.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO_2 , bevochtigde atmosfeer.

Flask Coating

Geen

Freezing Procedure

Gecryopreserveerde cellijnen worden verzonden op droog ijs in gevalideerde, geïsoleerde verpakkingen met voldoende koelmiddel om gedurende het transport ongeveer -78 °C te handhaven. Inspecteer de verpakking onmiddellijk na ontvangst en breng de flacons onverwijld over naar de juiste opslagplaats.

Shipping Conditions

Gecryopreserveerde cellijnen worden verzonden op droog ijs in gevalideerde, geïsoleerde verpakkingen met voldoende koelmiddel om gedurende het transport ongeveer -78 °C te handhaven. Inspecteer de verpakking onmiddellijk na ontvangst en breng de flacons onverwijld over naar de juiste opslagplaats.

INS-1 Cellen | 300471

Storage Conditions

Voor langdurige bewaring plaatst u flesjes in vloeibare stikstof in dampfase bij ongeveer -150 tot -196 °C. Opslag bij -80 °C is alleen aanvaardbaar als korte tussenstap vóór overbrenging naar vloeibare stikstof.

Kwaliteitscontrole en moleculaire analyse

Sterility

Mycoplasma-verontreiniging wordt uitgesloten met zowel PCR-gebaseerde testen als op luminescentie gebaseerde mycoplasma-detectiemethoden.

Om er zeker van te zijn dat er geen besmetting is met bacteriën, schimmels of gisten, worden de celculturen dagelijks onderworpen aan visuele inspecties.