

INS-1-celler | 300471

Generell informasjon

Description

INS-1-cellelinjen er avledet fra et røntgenskapt, transplanterbart insulinom hos rotter. Fordi INS-1-celler inneholder en høy konsentrasjon av insulin og reagerer på endringer i glukosenivået, blir de ofte brukt til å studere betacellenes funksjon. Vekst og hormonuttrykk er avhengig av reduksjonsmiddelet 2-merkaptoetanol.

INS-1-celler er heterogene og består av modne insulinpositive celler og umodne bi-hormonelle celler som uttrykker insulin- og glukagonproteiner.

Bi-hormonelle INS-1-celler har lavere Nkx6.1-uttrykk og mangler alfacellemarkører, noe som indikerer at de ikke er fullt modne. Kronisk glukosestimulering reduserer dessuten uttrykket av insulingener og -proteiner i INS-1-celler. Dermed reduseres også nivåene av insulin og proglukagon-deriverte peptider som GLP-1, GLP-2 og glukagon.

Organism

Rotte

Tissue

Bukspyttkjertel, Langerhanske øyer

Disease

Rotteinsulinom

Synonyms

INS1

Kjennetegn

Breed/Subspecies

NEDH

Age

666 dager

Gender

Mann

Cell type

Betacelle

Growth properties

Vedhengende

Regulatoriske data

Citation

INS-1 (Cytion katalognummer 300471)

Biosafety level

1

INS-1-celler | 300471

NCBI_TaxID 10116

CellosaurusAccession CVCL_0352

Biomolekylære data

Products Insulin, glutation

Håndtering

Culture Medium RPMI 1640, m: 2,0 mM stabil glutamin, m: 2,0 g/L NaHCO₃ (Cytion artikkelnummer 820700a)

Supplements Suppler med 10 % varmeinaktivert FBS, tilsett 2,5 g/L glukose og 10 mM HEPES

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Samle suspensjonscellene i et 15 ml rør, og vask de adherente cellene forsiktig med PBS uten kalsium og magnesium (bruk 3-5 ml for T25-kolber og 5-10 ml for T75-kolber). Påfør Accutase (1-2 ml for T25-kolber, 2,5 ml for T75-kolber) og sørg for full dekning av cellelaget. La cellene inkubere i romtemperatur i 10 minutter. Etter inkubasjon kombineres og sentrifugeres både suspensjonen og de adherente cellene. Etter sentrifugering resuspenderes cellepelletten forsiktig, og celsuspensjonen overføres til nye kolber som inneholder nytt medium.

Freeze medium Som kryopreserveringsmedium bruker vi komplett vekstmedium (inkludert FBS) + 10 % DMSO for tilstrekkelig levedyktighet etter opptining, eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som inneholder optimaliserte osmobeskyttende midler og metabolske stabilisatorer for å øke utvinningen og redusere kryoundusert stress.

INS-1-celler | 300471

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Kontroller at hetteglasset er dypfrost ved levering, ettersom cellene sendes på tørris for å opprettholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved mottak skal hetteglasset enten oppbevares umiddelbart ved temperaturer under -150°C for å sikre at cellenes integritet bevares, eller gå videre til trinn 3 hvis umiddelbar dyrking er nødvendig.
3. Ved umiddelbar dyrking tiner du hetteglasset raskt ved å senke det ned i et 37°C varmt vannbad med rent vann og et antimikrobielt middel, og røre forsiktig i 40-60 sekunder til det blir en liten isklump igjen.
4. Utfør alle påfølgende trinn under sterile forhold i en strømningshette, og desinfiser kryoflasken med 70 % etanol før du åpner den.
5. Åpne det desinfiserte hetteglasset forsiktig, og overfør cellesuspensjonen til et 15 ml sentrifugerør som inneholder 8 ml romtemperert dyrkingsmedium, og bland forsiktig.
6. Sentrifuger blandingen ved $300 \times g$ i 3 minutter for å separere cellene, og kast supernatanten som inneholder rester av frysemedium, forsiktig.
7. Resuspender cellepelletten forsiktig i 10 ml nytt dyrkningsmedium. For adherente celler, del suspensjonen mellom to T25-kulturkolber; for suspensjonskulturer, overfør alt mediet til én T25-kolbe for å fremme effektiv celleinteraksjon og vekst.
8. Følg etablerte subkulturprotokoller for fortsatt vekst og vedlikehold av cellelinjen, noe som sikrer pålitelige eksperimentelle resultater.

**Incubation
Atmosphere**

37°C , 5 % CO_2 , befuktet atmosfære.

Flask Coating

Ingen

**Freezing
Procedure**

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca. -78°C under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

**Shipping
Conditions**

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca. -78°C under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

INS-1-celler | 300471

Storage Conditions

For langtidsoppbevaring plasseres hetteglassene i flytende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Lagring ved -80 °C er kun akseptabelt som et kort mellomtrinn før overføring til flytende nitrogen.

Kvalitetskontroll og molekylær analyse

Sterility

Mykoplasma-kontaminering utelukkes ved hjelp av både PCR-baserte analyser og luminescensbaserte metoder for påvisning av mykoplasma.

For å sikre at det ikke finnes bakterie-, sopp- eller gjærkontaminering, blir cellekulturene inspisert visuelt hver dag.