Product sheet

Células INS-1 | 300471

Informações gerais

Description	A linha celular INS-1 é derivada de um insulinoma transplantável criado por raios X em ratos. Uma vez que as células INS-1 contêm uma elevada concentração de insulina e respondem a alterações nos níveis de glucose, são frequentemente utilizadas para estudar a função das células beta. O crescimento e a expressão da hormona dependem do agente redutor 2-mercaptoetanol. As células INS-1 são notáveis pela sua heterogeneidade, consistindo em células maduras positivas para a insulina e em células bi-hormonais imaturas que exprimem as proteínas da insulina e do glucagon. As células INS-1 bi-hormonais têm uma expressão mais baixa de Nkx6.1 e carecem de marcadores de células alfa, o que indica que não estão completamente amadurecidas. Além disso, a estimulação crónica da glicose reduz a expressão do gene e da proteína da insulina nas células INS-1. Como tal, os níveis de insulina e de péptidos derivados do proglucagon, como o GLP-1, o GLP-2 e o glucagon, são reduzidos.
Organism	Rato
Tissue	Pâncreas, ilhotas de Langerhans
Disease	Insulinoma do rato
Synonyms	INS1

Caraterísticas

Breed/Subspecies	NEDH
Age	666 dias
Gender	Masculino
Cell type	Célula beta
Growth properties	Aderente

Dados regulamentares

Citation	INS-1 (número de catálogo Cytion 300471)
Biosafety level	1

Células INS-1 | 300471

NCBI_TaxID	10116
CellosaurusAccession	CVCL_0352

Dados biomoleculares

Products	Insulina, glutatião

Manuseamento

Culture Medium	RPMI 1640, com: 2,0 mM de glutamina estável, com: 2,0 g/L NaHCO3 (número de artigo Cytion 820700a)
Supplements	Completar o meio com 10% de FBS inactivado pelo calor, adicionar 2,5 g/L de glucose e 10 mM de HEPES
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Reunir as células em suspensão num tubo de 15 ml e lavar suavemente as células aderentes com PBS sem cálcio e magnésio (utilizar 3-5 ml para os frascos T25 e 5-10 ml para os frascos T75). Aplicar Accutase (1-2 ml para os frascos T25, 2,5 ml para os frascos T75), assegurando a cobertura total da camada celular. Deixar as células incubar à temperatura ambiente durante 10 minutos. Após a incubação, combinar e centrifugar tanto a suspensão como as células aderentes. Após a centrifugação, ressuspender cuidadosamente o pellet de células e transferir a suspensão de células para novos frascos com meio fresco.
Freeze medium	Como meio de criopreservação, utilizamos um meio de crescimento completo (incluindo FBS) + 10% DMSO para uma viabilidade pós-descongelamento adequada, ou CM-1 (número de catálogo Cytion 800100), que inclui osmoprotectores optimizados e estabilizadores metabólicos para melhorar a recuperação e reduzir o stress induzido pela crio.

Células INS-1 | 300471

Thawing and Culturing Cells

1. Confirme que o frasco permanece profundamente congelado aquando da entrega, uma vez que as células são enviadas em gelo seco para manter as temperaturas ideais durante o transporte.

2. Após a receção, armazenar o frasco criogénico imediatamente a temperaturas inferiores a -150°C para garantir a preservação da integridade celular, ou avançar para o passo 3 se for necessária uma cultura imediata.

3. Para uma cultura imediata, descongelar rapidamente o frasco imergindo-o num banho de água a 37°C com água limpa e um agente antimicrobiano, agitando suavemente durante 40-60 segundos até ficar um pequeno aglomerado de gelo.

4. Efetuar todos os passos subsequentes em condições estéreis numa capela de fluxo, desinfectando o frasco criogénico com etanol a 70% antes de o abrir.

5. Abrir cuidadosamente o frasco desinfectado e transferir a suspensão de células para um tubo de centrifugação de 15 ml contendo 8 ml de meio de cultura à temperatura ambiente, misturando suavemente.

6. Centrifugar a mistura a 300 x g durante 3 minutos para separar as células e eliminar cuidadosamente o sobrenadante que contém o meio de congelação residual.

7. Ressuspender suavemente o pellet de células em 10 ml de meio de cultura fresco. No caso de células aderentes, dividir a suspensão entre dois frascos de cultura T25; no caso de culturas em suspensão, transferir todo o meio para um frasco T25 para promover uma interação e um crescimento eficazes das células.

8. Cumprir os protocolos de subcultura estabelecidos para o crescimento e manutenção contínuos da linha celular, garantindo resultados experimentais fiáveis.

Incubation Atmosphere	37°C, 5%$_{CO2}$, atmosfera humidificada.
Flask Coating	Nenhum
Freezing Procedure	As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente -78 °C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

Shipping Conditions	As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente -78 °C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.
Storage Conditions	Para conservação a longo prazo, colocar os frascos em azoto líquido em fase de vapor a uma temperatura entre -150 e -196 °C. O armazenamento a -80 °C é aceitável apenas como um curto passo intermédio antes da transferência para azoto líquido.

Controlo de Qualidade e Análise Molecular

Sterility	A contaminação por micoplasma é excluída utilizando ensaios baseados em PCR e métodos de deteção de micoplasma baseados em luminescência. Para garantir que não há contaminação bacteriana, fúngica ou de leveduras, as culturas de células são sujeitas a inspecções visuais diárias.