

**Bunky INS-1 | 300471****Všeobecné informácie****Description**

Bunková línia INS-1 je odvodená z röntgenom vytvoreného transplantovateľného inzulínómu u potkanov. Keďže bunky INS-1 obsahujú vysokú koncentráciu inzulínu a reagujú na zmeny hladiny glukózy, často sa používajú na štúdium funkcie beta buniek. Rast a expresia hormónov sú závislé od redukčného činidla 2-merkaptoetanolu.

Bunky INS-1 sú pozoruhodné svojou heterogenitou, pozostávajúcou zo zrelých inzulín-pozitívnych buniek a nezrelých bi-hormonálnych buniek exprimujúcich proteíny inzulínu a glukagónu.

Bi-hormonálne bunky INS-1 majú nižšiu expresiu Nkx6.1 a chýbajú im markery alfa buniek, čo naznačuje, že nie sú úplne zrelé. Okrem toho chronická stimulácia glukózou znižuje expresiu inzulínových génov a proteínov v bunkách INS-1. Hladiny inzulínu a peptidov odvodených od proglukagónu, ako sú GLP-1, GLP-2 a glukagón, sú preto znížené.

**Organism** Krysy**Tissue** Pankreas, Langerhansove ostrovčeky**Disease** Inzulínóm potkana**Synonyms** INS1**Charakteristika****Breed/Subspecies** NEDH**Age** 666 dní**Gender** Muži**Cell type** Beta bunka**Growth properties** Priľnavosť/suspénzia**Regulačné údaje****Citation** INS-1 (katalógové číslo Cytion 300471)**Biosafety level** 1

**Bunky INS-1 | 300471****NCBI\_TaxID** 10116**CellosaurusAccession** CVCL\_0352**Biomolekulárne údaje****Products** Inzulín, glutatión**Spracovanie****Culture Medium** RPMI 1640, w: 2,0 mM stabilný glutamín, w: 2,0 g/L NaHCO<sub>3</sub> (číslo výrobku Cytion 820700a)**Supplements** Doplňte médium o 10 % tepelne inaktivovaného FBS, pridajte 2,5 g/l glukózy a 10 mM HEPES**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Zhromaždite suspenzné bunky do 15 ml skúmavky a jemne premyte priľnuté bunky PBS bez vápnika a horčička (použite 3-5 ml pre banky T25 a 5-10 ml pre banky T75). Aplikujte Accutase (1 - 2 ml pre banky T25, 2,5 ml pre banky T75), aby ste zabezpečili úplné pokrytie bunkovej vrstvy. Nechajte bunky inkubovať pri izbovej teplote 10 minút. Po inkubácii spojte a odstredte suspenziu aj adherované bunky. Po odstredení opatrne resuspendujte bunkovú peletu a preneste bunkovú suspenziu do nových baniek obsahujúcich čerstvé médium.**Freeze medium** Ako kryokonzervačné médium používame kompletne rastové médium (vrátane FBS) + 10 % DMSO na zabezpečenie primeranej životaschopnosti po rozmrazení alebo CM-1 (katalógové číslo 800100 spoločnosti Cytion), ktoré obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory na zlepšenie regenerácie a zníženie stresu spôsobeného kryom.

## Bunky INS-1 | 300471

### Thawing and Culturing Cells

1. Overte si, že injekčná liekovka zostane pri doručení hlboko zmrazená, pretože bunky sa prepravujú na suchom ľade, aby sa počas prepravy udržala optimálna teplota.
2. Po prijatí buď okamžite uskladnite kryovialku pri teplote nižšej ako  $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ , aby ste zabezpečili zachovanie bunkovej integrity, alebo prejdite na krok 3, ak je potrebná okamžitá kultivácia.
3. V prípade okamžitej kultivácie injekčnú liekovku rýchlo rozmrazte ponorením do vodného kúpeľa s teplotou  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$  s čistou vodou a antimikrobiálnym prostriedkom, pričom ju jemne miešajte 40 - 60 sekúnd, kým nezostane malý ľadový chumáč.
4. Všetky ďalšie kroky vykonajte v sterilných podmienkach v prietokovom digestore a pred otvorením kryovialku dezinfikujte 70 % etanolom.
5. Opatrne otvorte dezinfikovanú fľaštičku a preneste bunkovú suspenziu do 15 ml centrifugačnej skúmavky obsahujúcej 8 ml kultivačného média s izbovou teplotou a jemne premiešajte.
6. Zmes odstreďujte pri  $300 \times g$  počas 3 minút, aby sa bunky oddelili, a opatrne zlikvidujte supernatant obsahujúci zvyšky zmrazovacieho média.
7. Pelet buniek jemne resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačného média. V prípade adherentných buniek rozdeľte suspenziu medzi dve kultivačné banky T25; v prípade suspenzných kultúr preneste všetko médium do jednej banky T25, aby ste podporili účinnú interakciu a rast buniek.
8. Dodržiavajte zavedené subkultivačné protokoly na nepretržitý rast a udržiavanie bunkovej línie, čím sa zabezpečia spoľahlivé výsledky experimentov.

### Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$ , 5 %  $\text{CO}_2$ , zvlhčená atmosféra.

### Flask Coating

Žiadne

### Freezing Procedure

Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$  počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

### Shipping Conditions

Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$  počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

## Bunky INS-1 | 300471

### Storage Conditions

Na dlhodobé uchovávanie umiestnite injekčné liekovky do kvapalnej fázy dusíka v pare pri teplote približne -150 až -196 °C. Skladovanie pri teplote -80 °C je prijateľné len ako krátky prechodný krok pred presunom do tekutého dusíka.

## Kontrola kvality / Genetický profil / HLA

### Sterility

Kontaminácia mykoplazmami sa vylučuje pomocou testov založených na PCR a metód detekcie mykoplazmiem založených na luminiscencii.

Aby sa zabezpečilo, že nedošlo ku kontaminácii baktériami, hubami alebo kvasinkami, bunkové kultúry sa denne vizuálne kontrolujú.