Product sheet

Cellules INS-1 | 300471

Renseignements généraux

Description	La lignée cellulaire INS-1 est issue d'un insulinome transplantable chez le rat, créé par rayons X. Comme les cellules INS-1 contiennent une forte concentration d'insuline et réagissent aux variations du taux de glucose, elles sont fréquemment utilisées pour étudier le fonctionnement des cellules bêta. Leur croissance et l'expression de leurs hormones dépendent de l'agent réducteur 2-mercaptoéthanol. Les cellules INS-1 se distinguent par leur hétérogénéité : elles se composent de cellules matures insulinopositives et de cellules bi-hormonales immatures exprimant les protéines d'insuline et de glucagon. Les cellules INS-1 bi-hormonales présentent une expression plus faible de Nkx6.1 et ne possèdent pas de marqueurs des cellules alpha, ce qui indique qu'elles ne sont pas complètement matures. De plus, une stimulation chronique par le glucose réduit l'expression du gène et de la protéine de l'insuline dans les cellules INS-1. Par conséquent, les niveaux d'insuline et de peptides dérivés du proglucagon, tels que le GLP-1, le GLP-2 et le glucagon, sont réduits.
Organism	Rat
Tissue	Pancréas, îlots de Langerhans
Disease	Insulinome chez le rat
Synonyms	INS1

Caractéristiques

Breed/Subspecies	NEDH
Age	666 jours
Gender	Homme
Cell type	Cellule bêta
Growth properties	Adepte

Données réglementaires

Citation	INS-1 (numéro de catalogue Cytion 300471)
Biosafety level	1

Cellules INS-1 | 300471

NCBI_TaxID	10116
CellosaurusAccession	CVCL_0352

Données biomoléculaires

Products	Insuline, glutathion

Manipulation

Culture Medium	RPMI 1640, contenant 2,0 mM de glutamine stable et 2,0 g/L de $NaHCO_3$ (numéro d'article Cytion 820700a)
Supplements	Compléter le milieu avec 10 % de sérum fœtal bovin (FBS) inactivé par la chaleur, ajouter 2,5 g/L de glucose et 10 mM d'HEPES
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Recueillez les cellules en suspension dans un tube de 15 ml et lavez délicatement les cellules adhérentes avec du PBS sans calcium ni magnésium (utilisez 3 à 5 ml pour les flacons T25 et 5 à 10 ml pour les flacons T75). Appliquez de l'Accutase (1 à 2 ml pour les flacons T25, 2,5 ml pour les flacons T75) en veillant à bien recouvrir toute la couche cellulaire. Laissez les cellules incuber à température ambiante pendant 10 minutes. Après l'incubation, combinez la suspension et les cellules adhérentes, puis centrifugez le tout. Après la centrifugation, remettez soigneusement le culot cellulaire en suspension et transférez la suspension cellulaire dans de nouveaux flacons contenant du milieu frais.
Freeze medium	Comme milieu de cryoconservation, nous utilisons un milieu de croissance complet (contenant du sérum fœtal bovin) + 10 % de DMSO pour assurer une viabilité adéquate après décongélation, ou du CM-1 (référence Cytion 800100), qui contient des osmoprotecteurs et des stabilisateurs métaboliques optimisés pour améliorer la récupération et réduire le stress induit par la cryoconservation.

Thawing and Culturing Cells

1. Assurez-vous que le flacon reste bien congelé à la livraison, car les cellules sont expédiées sur de la glace sèche afin de maintenir des températures optimales pendant le transport.

2. À la réception, conservez immédiatement le cryofiole à une température inférieure à -150 °C pour garantir la préservation de l'intégrité cellulaire, ou passez à l'étape 3 si une culture immédiate est nécessaire.

3. Pour une culture immédiate, décongelez rapidement le flacon en l'immergeant dans un bain-marie à 37 °C contenant de l'eau propre et un agent antimicrobien, en agitant doucement pendant 40 à 60 secondes jusqu'à ce qu'il ne reste qu'un petit morceau de glace.

4. Effectuez toutes les étapes suivantes dans des conditions stériles sous une hotte à flux laminaire, en désinfectant le cryotube avec de l'éthanol à 70 % avant de l'ouvrir.

5. Ouvrez avec précaution le flacon désinfecté et transférez la suspension cellulaire dans un tube à centrifuger de 15 ml contenant 8 ml de milieu de culture à température ambiante, en mélangeant délicatement.

6. Centrifuger le mélange à 300 x g pendant 3 minutes pour séparer les cellules, puis jeter avec précaution le surnageant contenant le milieu de congélation résiduel.

7. Remettre délicatement le culot cellulaire en suspension dans 10 ml de milieu de culture frais. Pour les cellules adhérentes, répartir la suspension dans deux flacons de culture T25; pour les cultures en suspension, transférer la totalité du milieu dans un seul flacon T25 afin de favoriser une interaction et une croissance cellulaires efficaces.

8. Respectez les protocoles de sous-culture établis pour assurer la croissance continue et le maintien de la lignée cellulaire, garantissant ainsi des résultats expérimentaux fiables.

Incubation Atmosphere

37 °C, 5 % de CO_2, atmosphère humidifiée.

Shipping Conditions

Les lignées cellulaires cryoconservées sont expédiées dans de la glace sèche, dans un emballage isotherme validé contenant suffisamment de réfrigérant pour maintenir une température d'environ −78 °C pendant tout le transport. À la réception, inspectez immédiatement le conteneur et transférez sans délai les flacons dans un lieu de stockage approprié.

Storage Conditions

Pour une conservation à long terme, placez les flacons dans de l'azote liquide en phase vapeur à une température comprise entre environ −150 et −196 °C. L'entreposage à −80 °C n'est acceptable qu'à titre d'étape intermédiaire de courte durée avant le transfert dans l'azote liquide.

Contrôle de la qualité et analyse moléculaire

Sterility

La contamination par les mycoplasmes est exclue à l'aide de tests basés sur la PCR et de méthodes de détection des mycoplasmes par luminescence.

Afin de s’assurer qu’il n’y a aucune contamination bactérienne, fongique ou par des levures, les cultures cellulaires font l’objet d’inspections visuelles quotidiennes.