Product sheet

Buňky IEC-18 | 305302

Obecné informace

Description	Buněčná linie IEC-18 je netransformovaná epiteliální buněčná linie odvozená z kryptových buněk tenkého střeva potkana. Bylo prokázáno, že tyto buňky účinně modelují fyziologické vlastnosti epitelu tenkého střeva, zejména pokud jde o transport chloridových iontů (Cl-). Chloridové kanály v buňkách IEC-18 vykazují odlišné typy vodivosti, které reagují na různé podněty, jako je otok buněk, zvýšené množství intracelulárního vápníku (Ca^{2+}) a zvýšené množství cyklického AMP (cAMP). Například Cl- proudy aktivované otokem v buňkách IEC-18 se vyznačují rektifikací směrem ven a napěťovou nezávislostí. Buňky IEC-18 navíc exprimují kanály CFTR (cystická fibróza - regulátor transmembránové vodivosti), o čemž svědčí přítomnost Cl-vodivosti aktivované cAMP, kterou lze inhibovat glibenklamidem a 5-nitro-2-(3-fenylpropylamino)benzoovou kyselinou (NPPB), ale neovlivňuje ji DIDS. Buňky IEC-18 byly rovněž použity ke zkoumání mechanismů přežití buněk při stresu vyvolaném oddělením, známém jako anoikis. Výzkum naznačuje, že prostaglandin E2 (PGE2) může podporovat životaschopnost a agregaci buněk v oddělených buňkách IEC-18 prostřednictvím signálních drah zprostředkovaných cAMP. Tato ochrana před anoikis je spojena s aktivací adenylátcyklázy a proteinkinázy A (PKA), což zvyšuje adhezi a životaschopnost buněk i v pozastaveném stavu. Tato zjištění jsou významná pro pochopení procesů souvisejících se zánětem a potenciálního příspěvku ke karcinogenezi ve střevních tkáních. Dále byly monovrstvy IEC-18 použity ke studiu transportu různých molekul přes střevní bariéru. Ve srovnání s buněčnou linií Caco-2 poskytují buňky IEC-18 přesnější model pasivního transcelulárního a paracelulárního transportu díky své strukturální podobnosti s kryptovými buňkami tenkého střeva. Na rozdíl od buněk Caco-2, které mají významné aktivní transportní schopnosti, vykazují buňky IEC-18 minimální transport zprostředkovaný nosiči, což z nich činí vhodnější volbu pro analýzu pasivní propustnosti hydrofilních makromolekul.
Organism	Krysy
Tissue	Tenké střevo, ileum
Disease	Normální
Synonyms	IEC 18, IEC18, linie střevních epitelových buněk č. 18

Charakteristika

Breed/Subspecies	Charles River Sprague Dawley (CD(SD))
Age	18-24 dní
Gender	Nespecifikováno
Morphology	Epitelu podobné
Cell type	Epitelová buňka

Buňky IEC-18 | 305302

Growth properties	Adherentní

Regulační údaje

Citation	IEC-18 (katalogové číslo Cytion 305302)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	10116
CellosaurusAccession	CVCL_0342

Biomolekulární data

Zpracování

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/l glukózy, w: 4 mM L-glutaminu, w: 3,7 g/l NaHCO3, w: 1,0 mM pyruvátu sodného (číslo výrobku Cytion 820300a)
Supplements	Doplňte médium o 10% FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Odstraňte staré médium z adherovaných buněk a promyjte je PBS bez vápníku a hořčíku. Pro baňky T25 použijte 3-5 ml PBS a pro baňky T75 5-10 ml. Poté buňky zcela zakryjte přípravkem Accutase, přičemž použijte 1-2 ml pro baňky T25 a 2,5 ml pro baňky T75. Nechte buňky inkubovat při pokojové teplotě po dobu 8-10 minut, aby se oddělily. Po inkubaci jemně promíchejte buňky s 10 ml média, aby byly znovu suspendovány, a poté je odstřeďte při 300xg po dobu 3 minut. Supernatant vyhoďte, buňky znovu rozpusťte v čerstvém médiu a přeneste je do nových baněk, které již obsahují čerstvé médium.
Split ratio	Doporučuje se poměr 1:3 až 1:6
Seeding density	2 x 10^4 buněk/cm^2
Fluid renewal	2krát týdně

Buňky IEC-18 | 305302

Freeze medium	Jako kryokonzervační médium používáme kompletní růstové médium (včetně FBS) + 10 % DMSO pro zajištění dostatečné životaschopnosti po rozmrazení nebo CM-1 (katalogové číslo 800100 společnosti Cytion), které obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory pro zlepšení regenerace a snížení stresu způsobeného kryo.
Thawing and Culturing Cells	1. Ověřte si, že lahvička zůstane při dodání hluboce zmražená, protože buňky se přepravují na suchém ledu, aby se během přepravy udržely optimální teploty. 2. Po obdržení kryovialku buď okamžitě uložte při teplotě nižší než -150 °C, abyste zajistili zachování buněčné integrity, nebo přejděte ke kroku 3, pokud je nutná okamžitá kultivace. 3. Pro okamžitou kultivaci rychle rozmrazte lahvičku ponořením do vodní lázně o teplotě 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálním prostředkem a jemně ji míchejte po dobu 40-60 sekund, dokud nezůstane malý ledový chuchvalec. 4. Všechny další kroky provádějte za sterilních podmínek v průtokové digestoři a před otevřením kryovialku dezinfikujte 70% ethanolem. 5. Opatrně otevřete dezinfikovanou lahvičku a přeneste buněčnou suspenzi do 15 ml centrifugační zkumavky obsahující 8 ml kultivačního média o pokojové teplotě a jemně promíchejte. 6. Směs odstřeďujte při 300 x g po dobu 3 minut, aby se buňky oddělily, a supernatant obsahující zbytky mrazicího média opatrně zlikvidujte. 7. Pelety buněk jemně resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačního média. U adherentních buněk rozdělte suspenzi mezi dvě kultivační baňky T25; u suspenzních kultur přeneste veškeré médium do jedné baňky T25, abyste podpořili účinnou interakci a růst buněk. 8. Dodržujte zavedené subkultivační protokoly pro kontinuální růst a udržování buněčné linie, čímž zajistíte spolehlivé výsledky experimentů.
Incubation Atmosphere	37 °C, 5 % $_{CO2}$, zvlhčená atmosféra.
Flask Coating	Žádný
Freezing Procedure	Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

Buňky IEC-18 | 305302

Shipping Conditions	Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.
Storage Conditions	Pro dlouhodobé uchování umístěte lahvičky do kapalného dusíku v plynné fázi při teplotě přibližně -150 až -196 °C. Skladování při -80 °C je přijatelné pouze jako krátký přechodný krok před přemístěním do kapalného dusíku.

Kontrola kvality a molekulární analýza

Sterility	Kontaminace mykoplazmaty je vyloučena jak pomocí testů založených na PCR, tak pomocí luminiscenčních metod detekce mykoplazmy. Aby se zajistilo, že nedojde ke kontaminaci bakteriemi, plísněmi nebo kvasinkami, jsou buněčné kultury denně podrobovány vizuálním kontrolám.