Product sheet

Κύτταρα IEC-18 | 305302

Γενικές πληροφορίες

Description	Η κυτταρική σειρά IEC-18 είναι μια μη μετασχηματισμένη επιθηλιακή κυτταρική σειρά που προέρχεται από τα κύτταρα των κρυπτών του λεπτού εντέρου αρουραίου. Τα κύτταρα αυτά έχει αποδειχθεί ότι μοντελοποιούν αποτελεσματικά τις φυσιολογικές ιδιότητες του επιθηλίου του λεπτού εντέρου, ιδίως όσον αφορά τη μεταφορά ιόντων χλωρίου (Cl-). Οι δίαυλοι χλωρίου στα κύτταρα IEC-18 παρουσιάζουν διακριτούς τύπους αγωγιμότητας που ανταποκρίνονται σε διάφορα ερεθίσματα, όπως η διόγκωση των κυττάρων, το αυξημένο ενδοκυττάριο ασβέστιο (Ca^{2+}) και το αυξημένο κυκλικό AMP (cAMP). Για παράδειγμα, τα ρεύματα Cl- που ενεργοποιούνται με διόγκωση στα κύτταρα IEC-18 χαρακτηρίζονται από ανορθωτική διόρθωση προς τα έξω και ανεξαρτησία τάσης. Επιπλέον, τα κύτταρα IEC-18 εκφράζουν διαύλους του ρυθμιστή διαμεμβρανικής αγωγιμότητας της κυστικής ίνωσης (CFTR), γεγονός που αποδεικνύεται από την παρουσία ενεργοποιημένης από cAMP αγωγιμότητας Cl- η οποία μπορεί να ανασταλεί από γλιβενκλαμίδιο και 5-νιτρο-2-(3-φαινυλοπροπυλαμινο)βενζοϊκό οξύ (NPPB), αλλά δεν επηρεάζεται από DIDS. Τα κύτταρα IEC-18 έχουν επίσης χρησιμοποιηθεί για τη διερεύνηση μηχανισμών επιβίωσης των κυττάρων σε συνθήκες στρες που προκαλείται από την απομάκρυνση, γνωστή ως ανοϊκίς. Η έρευνα δείχνει ότι η προσταγλανδίνη E2 (PGE2) μπορεί να προάγει τη βιωσιμότητα και τη συσσωμάτωση των κυττάρων σε αποκολλημένα κύτταρα IEC-18 μέσω σηματοδοτικών μονοπατιών που διαμεσολαβούνται από το cAMP. Αυτή η προστασία από την anoikis σχετίζεται με την ενεργοποίηση της αδενυλικής κυκλάσης και της πρωτεϊνικής κινάσης A (PKA), ενισχύοντας την κυτταρική προσκόλληση και τη βιωσιμότητα ακόμη και σε καταστάσεις αναστολής. Τα ευρήματα αυτά είναι σημαντικά για την κατανόηση των διαδικασιών που σχετίζονται με τη φλεγμονή και την πιθανή συμβολή στην καρκινογένεση στους εντερικούς ιστούς. Επιπλέον, μονοστρώματα IEC-18 έχουν χρησιμοποιηθεί για τη μελέτη της μεταφοράς διαφόρων μορίων διαμέσου του εντερικού φραγμού. Σε σύγκριση με την κυτταρική σειρά Caco-2, τα κύτταρα IEC-18 παρέχουν ένα πιο ακριβές μοντέλο για την παθητική διακυτταρική και παρακυτταρική μεταφορά λόγω των δομικών ομοιοτήτων τους με τα κύτταρα των κρυπτών του λεπτού εντέρου. Σε αντίθεση με τα κύτταρα Caco-2, τα οποία διαθέτουν σημαντικές ικανότητες ενεργού μεταφοράς, τα κύτταρα IEC-18 επιδεικνύουν ελάχιστη μεταφορά με τη μεσολάβηση φορέων, γεγονός που τα καθιστά καταλληλότερη επιλογή για την ανάλυση της παθητικής διαπερατότητας υδρόφιλων μακρομορίων.
Organism	Αρουραίος
Tissue	Λεπτό έντερο, ειλεός
Disease	Κανονικό
Synonyms	IEC 18, IEC18, εντερική επιθηλιοειδής κυτταρική σειρά αριθ. 18

Χαρακτηριστικά

Breed/Subspecies	Charles River Sprague Dawley (CD(SD))
Age	18-24 ημέρες

Κύτταρα IEC-18 | 305302

Gender	Απροσδιόριστο
Morphology	Επιθηλιοειδής
Cell type	Επιθηλιακό κύτταρο
Growth properties	Προσκολλημένο

Ρυθμιστικά δεδομένα

Citation	IEC-18 (αριθμός καταλόγου Cytion 305302)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	10116
CellosaurusAccession	CVCL_0342

Βιομοριακά δεδομένα

Χειρισμός

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/L γλυκόζη, w: 4 mM L-γλουταμίνη, w: 3,7 g/L NaHCO3, w: 1,0 mM πυρουβικό νάτριο (αριθμός άρθρου Cytion 820300a)
Supplements	Συμπληρώστε το μέσο με 10% FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Αφαιρέστε το παλιό μέσο από τα προσκολλημένα κύτταρα και πλύντε τα με PBS που δεν περιέχει ασβέστιο και μαγνήσιο. Για φιάλες T25, χρησιμοποιήστε 3-5 ml PBS και για φιάλες T75, χρησιμοποιήστε 5-10 ml. Στη συνέχεια, καλύψτε πλήρως τα κύτταρα με Accutase, χρησιμοποιώντας 1-2 ml για φιάλες T25 και 2,5 ml για φιάλες T75. Αφήστε τα κύτταρα να επωαστούν σε θερμοκρασία δωματίου για 8-10 λεπτά για να αποκολληθούν. Μετά την επώαση, αναμείξτε απαλά τα κύτταρα με 10 ml μέσου για να ανασυσταθούν και, στη συνέχεια, φυγοκεντρίστε στα 300xg για 3 λεπτά. Απορρίψτε το υπερκείμενο υγρό, ανασυστάστε τα κύτταρα σε φρέσκο μέσο και μεταφέρετέ τα σε νέες φιάλες που περιέχουν ήδη φρέσκο μέσο.
Seeding density	2 x 10^4 κύτταρα/cm^2

Κύτταρα IEC-18 | 305302

Fluid renewal	2 φορές την εβδομάδα
Freeze medium	Ως μέσο κρυοσυντήρησης, χρησιμοποιούμε πλήρες μέσο ανάπτυξης (συμπεριλαμβανομένου του FBS) + 10% DMSO για επαρκή βιωσιμότητα μετά την απόψυξη, ή CM-1 (αριθμός καταλόγου Cytion 800100), το οποίο περιλαμβάνει βελτιστοποιημένα ωσμοπροστατευτικά και μεταβολικούς σταθεροποιητές για την ενίσχυση της ανάκαμψης και τη μείωση του στρες που προκαλείται από την κρυοσυντήρηση.

Thawing and Culturing Cells

1. Επιβεβαιώστε ότι το φιαλίδιο παραμένει βαθιά παγωμένο κατά την παράδοση, καθώς τα κύτταρα αποστέλλονται σε ξηρό πάγο για να διατηρούνται οι βέλτιστες θερμοκρασίες κατά τη μεταφορά.
2. Κατά την παραλαβή, είτε αποθηκεύστε το κρυοφιαλίδιο αμέσως σε θερμοκρασίες κάτω των -150°C για να διασφαλίσετε τη διατήρηση της κυτταρικής ακεραιότητας, είτε προχωρήστε στο βήμα 3 εάν απαιτείται άμεση καλλιέργεια.
3. Για άμεση καλλιέργεια, αποψύξτε γρήγορα το φιαλίδιο βυθίζοντάς το σε υδατόλουτρο 37°C με καθαρό νερό και αντιμικροβιακό παράγοντα, αναδεύοντας απαλά για 40-60 δευτερόλεπτα μέχρι να παραμείνει ένα μικρό σβόλο πάγου.
4. Εκτελέστε όλα τα επόμενα βήματα υπό αποστειρωμένες συνθήκες σε απορροφητήρα ροής, απολυμαίνοντας το κρυοφιαλίδιο με 70% αιθανόλη πριν από το άνοιγμα.
5. Ανοίξτε προσεκτικά το απολυμασμένο φιαλίδιο και μεταφέρετε το εναιώρημα των κυττάρων σε ένα σωληνάριο φυγοκέντρησης των 15 ml που περιέχει 8 ml θρεπτικού μέσου καλλιέργειας σε θερμοκρασία δωματίου, αναμειγνύοντας απαλά.
6. Φυγοκεντρίστε το μείγμα στα 300 x g για 3 λεπτά για να διαχωριστούν τα κύτταρα και απορρίψτε προσεκτικά το υπερκείμενο που περιέχει το υπόλοιπο μέσο κατάψυξης.
7. Επανασυσσωματώστε απαλά το κυτταρικό σφαιρίδιο σε 10 ml φρέσκου μέσου καλλιέργειας. Για προσκολλημένα κύτταρα, μοιράστε το εναιώρημα σε δύο φιάλες καλλιέργειας T25- για καλλιέργειες εναιωρήματος, μεταφέρετε όλο το μέσο σε μία φιάλη T25 για να προωθήσετε την αποτελεσματική αλληλεπίδραση και ανάπτυξη των κυττάρων.
8. Τηρείτε τα καθιερωμένα πρωτόκολλα υποκαλλιέργειας για τη συνεχή ανάπτυξη και διατήρηση της κυτταρικής σειράς, εξασφαλίζοντας αξιόπιστα πειραματικά αποτελέσματα.

Incubation Atmosphere	37°C, 5% $_{CO2}$, υγροποιημένη ατμόσφαιρα.
Flask Coating	Κανένα

Κύτταρα IEC-18 | 305302

Freezing Procedure	Οι κρυοσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των -78 °C καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.
Shipping Conditions	Οι κρυοσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των -78 °C καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.
Storage Conditions	Για μακροχρόνια συντήρηση, τοποθετήστε τα φιαλίδια σε υγρό άζωτο σε φάση ατμών σε θερμοκρασία περίπου -150 έως -196 °C. Η αποθήκευση στους -80 °C είναι αποδεκτή μόνο ως σύντομο ενδιάμεσο βήμα πριν από τη μεταφορά σε υγρό άζωτο.

Έλεγχος ποιότητας και μοριακή ανάλυση

Sterility	Η μόλυνση από μυκόπλασμα αποκλείεται με τη χρήση τόσο των δοκιμασιών που βασίζονται στην PCR όσο και των μεθόδων ανίχνευσης μυκοπλάσματος με βάση τη φωταύγεια. Για να διασφαλιστεί ότι δεν υπάρχει μόλυνση από βακτήρια, μύκητες ή ζύμες, οι κυτταροκαλλιέργειες υποβάλλονται σε καθημερινές οπτικές επιθεωρήσεις.