Product sheet

IEC-18 rakud | 305302

Üldine teave

Description	IEC-18 rakuliin on roti peensoole krüptirakkudest saadud transformeerimata epiteelirakuliin. On näidatud, et need rakud modelleerivad tõhusalt peensoole epiteeli füsioloogilisi omadusi, eriti seoses kloriidioonide (Cl-) transpordiga. IEC-18 rakkude kloriidikanalitel on erinevad juhtimistüübid, mis reageerivad erinevatele stiimulitele, nagu rakkude paisumine, suurenenud rakusisene kaltsium (Ca^{2+}) ja suurenenud tsükliline AMP (cAMP). Näiteks iseloomustab IEC-18 rakkude paisumisega aktiveeritud Cl- voolu väljapoole suunatud rektifikatsioon ja pinge sõltumatus. Lisaks sellele ekspresseerivad IEC-18 rakud tsüstilise fibroosi transmembraanjuhtivuse regulaatori (CFTR) kanaleid, mida tõendab cAMP-aktiveeritud Cl-juhtivuse olemasolu, mida saab inhibeerida glibenklamiidi ja 5-nitro-2-(3-fenüülpropüülamino)bensoehappe (NPPB) abil, kuid mida ei mõjuta DIDS. IEC-18 rakke on kasutatud ka rakkude ellujäämismehhanismide uurimiseks detachment-indutseeritud stressi, nn anoikis, all. Uuringud näitavad, et prostaglandiin E2 (PGE2) võib edendada rakkude elujõulisust ja agregatsiooni IEC-18 rakkudes eraldunud rakkude puhul cAMP-vahendatud signaaliradade kaudu. See kaitse anoikise eest on seotud adenülaatsüklaasi ja proteiinkinaas A (PKA) aktiveerimisega, mis suurendab rakkude adhesiivsust ja elujõulisust isegi peatatud olekus. Sellised leiud on olulised, et mõista põletikuga seotud protsesse ja võimalikku panust kantserogeneesile soolestiku kudedes. Lisaks on IEC-18 monokihti kasutatud erinevate molekulide transpordi uurimiseks läbi soolebarjääri. Võrreldes Caco-2 rakuliiniga pakuvad IEC-18 rakud täpsemat mudelit passiivse transsellulaarse ja paratsellulaarse transpordi jaoks, kuna nad on struktuuriliselt sarnased peensoole krüptirakkudega. Erinevalt Caco-2 rakkudest, millel on märkimisväärne aktiivne transpordivõime, näitavad IEC-18 rakud minimaalset kandevahendatud transporti, mistõttu on nad sobivam valik hüdrofiilsete makromolekulide passiivse läbilaskvuse analüüsimiseks.
Organism	Rott
Tissue	Peensool, ileum
Disease	Tavaline
Synonyms	IEC 18, IEC18, soole epitelioidide rakuliin nr 18

Omadused

Breed/Subspecies	Charles River Sprague Dawley (CD(SD))
Age	18-24 päeva
Gender	Täpsustamata
Morphology	Epiteelilaadsed
Cell type	Epiteelirakk

Product sheet

IEC-18 rakud | 305302

Growth properties	Kinnipeetav

Regulatiivsed andmed

Citation	IEC-18 (Cytioni kataloginumber 305302)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	10116
CellosaurusAccession	CVCL_0342

Biomolekulaarsed andmed

Töötlemine

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/L glükoosi, w: 4 mM L-glutamiini, w: 3,7 g/L NaHCO3, w: 1,0 mM naatriumpüruvaati (Cytioni artikli number 820300a)
Supplements	Täiendada söötme 10% FBS-ga
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Eemaldage kleepunud rakkudelt vana söötme ja peske neid PBS-ga, milles puudub kaltsium ja magneesium. T25 kolbide puhul kasutage 3-5 ml PBS-i ja T75 kolbide puhul 5-10 ml. Seejärel katke rakud täielikult Accutase'iga, kasutades 1-2 ml T25 kolbide puhul ja 2,5 ml T75 kolbide puhul. Laske rakkudel inkubeerida 8-10 minutit toatemperatuuril, et need eralduksid. Pärast inkubeerimist segage rakud ettevaatlikult 10 ml söötmega, et neid resuspenseerida, seejärel tsentrifuugige 3 minutit 300xg juures. Visake supernatant ära, suspenseerige rakud uuesti värskes keskkonnas ja viige need uutesse kolvidesse, mis sisaldavad juba värsket keskkonda.
Seeding density	2 x 10^4 rakku/cm^2
Fluid renewal	2 korda nädalas
Freeze medium	Krüosäilitusvedelikusena kasutame täielikku kasvukeskkonda (sh FBS) + 10% DMSO, et tagada piisav elujõulisus pärast sulatamist, või CM-1 (Cytioni kataloginumber 800100), mis sisaldab optimeeritud osmoprotektante ja metaboolseid stabilisaatoreid, et parandada taastumist ja vähendada krüostressi.

Thawing and Culturing Cells	1. Veenduge, et viaal jääb tarnimisel sügavkülmutatud, sest rakud transporditakse kuiva jääga, et säilitada optimaalne temperatuur transpordi ajal. 2. Pärast kättesaamist säilitage krüoviaal kas kohe temperatuuril alla -150 °C, et tagada rakkude terviklikkuse säilimine, või jätkake sammuga 3, kui on vaja koheselt kultiveerida. 3. Kohese kultiveerimise korral sulatage viaali kiiresti, kastes selle 37 °C veevanni puhta vee ja antimikroobse ainega, segades seda õrnalt 40-60 sekundit, kuni alles jääb väike jääklomp. 4. Tehke kõik järgmised toimingud steriilsetes tingimustes vooluhoodis, desinfitseerides krüoviaal enne avamist 70% etanooliga. 5. Avage desinfitseeritud viaali ettevaatlikult ja viige rakususpensioon ettevaatlikult segades 15 ml tsentrifuugitorusse, mis sisaldab 8 ml toatemperatuuril olevat kasvukeskkonda. 6. Rakkude eraldamiseks tsentrifuugige segu 300 x g juures 3 minutit ja visake ülejäänud külmutusvedelikku sisaldav supernatant ettevaatlikult ära. 7. Resuspendeerige rakupellet ettevaatlikult 10 ml värskes kasvukeskkonnas. Adhereeruvate rakkude puhul jagage suspensioon kahe T25 kultuurkolvi vahel; suspensioonikultuuride puhul kandke kogu söötmekeskkond ühte T25 kolbi, et soodustada rakkude tõhusat koostoimet ja kasvu. 8. Järgige kehtestatud subkultuuriprotokolle rakuliini jätkuvaks kasvuks ja säilitamiseks, tagades usaldusväärsed katsetulemused.
Incubation Atmosphere	37°C, 5% $_{CO2}$, niisutatud atmosfäär.
Flask Coating	Puudub
Freezing Procedure	Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu -78 °C. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige viaalid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.
Shipping Conditions	Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu -78 °C. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige viaalid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

Storage Conditions	Pikaajaliseks säilitamiseks asetage viaalid aurufaasis vedela lämmastikuga umbes -150 kuni -196 °C juures. Säilitamine temperatuuril -80 °C on vastuvõetav ainult lühikese vaheetapina enne vedela lämmastikuga üleviimist.

Kvaliteedikontroll ja molekulaaranalüüs

Sterility	Mükoplasmakontaminatsioon on välistatud nii PCR-põhiste analüüside kui ka luminestsentsil põhinevate mükoplasma tuvastamise meetodite abil. Bakteriaalse, seene- või pärmsaaste puudumise tagamiseks kontrollitakse rakukultuure iga päev visuaalselt.