Product sheet

IEC-18-kennot | 305302

Yleisiä tietoja

Description	IEC-18-solulinja on muuntumaton epiteelisolulinja, joka on peräisin rotan ohutsuolen kryptasoluista. Näiden solujen on osoitettu mallintavan tehokkaasti ohutsuolen epiteelin fysiologisia ominaisuuksia, erityisesti kloridi-ionien (Cl-) kuljetuksen osalta. IEC-18-solujen kloridikanavilla on erityyppisiä konduktansseja, jotka reagoivat erilaisiin ärsykkeisiin, kuten solun turvotukseen, lisääntyneeseen solunsisäiseen kalsiumiin (Ca^{2+}) ja kohonneeseen sykliseen AMP:hen (cAMP). Esimerkiksi IEC-18-solujen turvotuksen aktivoimille Cl-virroille on ominaista ulospäin suuntautuva oikaisu ja jännitteestä riippumattomuus. Lisäksi IEC-18-solut ilmentävät CFTR-kanavia (cystic fibrosis transmembrane conductance regulator), mistä on osoituksena cAMP-aktivoitu Cl-johtavuus, jota voidaan estää glibenklamidilla ja 5-nitro-2-(3-fenyylipropyyliamino)bentsoehapolla (NPPB), mutta johon DIDS ei vaikuta. IEC-18-soluja on käytetty myös solujen selviytymismekanismien tutkimiseen irtoamisen aiheuttamassa stressissä, joka tunnetaan nimellä anoikis. Tutkimukset osoittavat, että prostaglandiini E2 (PGE2) voi edistää solujen elinkelpoisuutta ja aggregaatiota irronneissa IEC-18-soluissa cAMP-välitteisten signaalireittien kautta. Tämä suoja anoikisilta liittyy adenylaattisyklaasin ja proteiinikinaasi A:n (PKA) aktivoitumiseen, mikä parantaa solujen adheesiota ja elinkelpoisuutta myös suspendoituneissa tiloissa. Tällaiset havainnot ovat merkittäviä, kun halutaan ymmärtää tulehdukseen liittyviä prosesseja ja niiden mahdollista vaikutusta karsinogeneesiin suolistokudoksissa. Lisäksi IEC-18-monolayerejä on käytetty erilaisten molekyylien kulkeutumisen tutkimiseen suolistoesteen läpi. Verrattuna Caco-2-solulinjaan IEC-18-solut tarjoavat tarkemman mallin passiiviselle transsellulaariselle ja parasellulaariselle kulkeutumiselle, koska ne ovat rakenteellisesti samankaltaisia kuin ohutsuolen kryptasolut. Toisin kuin Caco-2-soluilla, joilla on huomattavat aktiiviset kuljetuskyvyt, IEC-18-soluilla on minimaalinen kantaja-välitteinen kuljetus, joten ne ovat sopivampi valinta hydrofiilisten makromolekyylien passiivisen läpäisevyyden analysoimiseksi.
Organism	Rotta
Tissue	Ohutsuoli, ileum
Disease	Normaali
Synonyms	IEC 18, IEC18, suoliston epiteelisolulinja nro 18

Ominaisuudet

Breed/Subspecies	Charles River Sprague Dawley (CD(SD))
Age	18-24 päivää
Gender	Määrittelemätön
Morphology	Epiteelin kaltainen

Product sheet

IEC-18-kennot | 305302

Cell type	Epiteelisolu
Growth properties	Tarttuva

Sääntelytiedot

Citation	IEC-18 (Cytionin luettelonumero 305302)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	10116
CellosaurusAccession	CVCL_0342

Biomolekyylitiedot

Käsittely

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/l glukoosia, w: 4 mM L-glutamiinia, w: 3,7 g/l NaHCO3, w: 1,0 mM natriumpyruvaattia (Cytionin artikkelinumero 820300a)
Supplements	Täydennetään elatusainetta 10 %:lla FBS:llä
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Poista vanha väliaine tarttuneista soluista ja pese ne PBS:llä, josta puuttuu kalsiumia ja magnesiumia. Käytä T25-pulloissa 3-5 ml PBS:ää ja T75-pulloissa 5-10 ml. Peitä sitten solut kokonaan Accutase-valmisteella, käyttäen 1-2 ml T25-pulloissa ja 2,5 ml T75-pulloissa. Anna solujen inkuboitua huoneenlämmössä 8-10 minuuttia solujen irtoamiseksi. Inkuboinnin jälkeen solut sekoitetaan varovasti 10 ml:n väliaineella niiden resuspendoimiseksi ja sentrifugoidaan sitten 300xg:n nopeudella 3 minuutin ajan. Hävitä supernatantti, suspendoi solut uudelleen tuoreeseen väliaineeseen ja siirrä ne uusiin pulloihin, jotka sisältävät jo tuoretta väliaineita.
Seeding density	2 x 10^4 solua/cm^2
Fluid renewal	2 kertaa viikossa

IEC-18-kennot | 305302

Freeze medium	Kryosäilytysmediana käytämme täydellistä kasvualustaa (mukaan lukien FBS) + 10 % DMSO:ta riittävän sulatuksen jälkeisen elinkelpoisuuden varmistamiseksi tai CM-1:tä (Cytionin luettelonumero 800100), joka sisältää optimoituja osmoprotectantteja ja metabolisia stabilisaattoreita, jotka parantavat elpymistä ja vähentävät kryosäilytyksen aiheuttamaa stressiä.

Thawing and Culturing Cells

1. Varmista, että injektiopullo pysyy syväjäädytettynä toimitettaessa, sillä solut kuljetetaan kuivajäässä, jotta optimaalinen lämpötila säilyy kuljetuksen aikana.
2. Vastaanotettaessa kryopullo joko säilytetään välittömästi alle -150 °C:n lämpötilassa solujen eheyden säilyttämiseksi tai edetään vaiheeseen 3, jos tarvitaan välitöntä viljelyä.
3. Välitöntä viljelyä varten sulata injektiopullo nopeasti upottamalla se 37 °C:n vesihauteeseen, jossa on puhdasta vettä ja mikrobilääkettä, ja sekoittamalla sitä varovasti 40-60 sekunnin ajan, kunnes jäästä on jäljellä pieni jäämöhkäle.
4. Suorita kaikki seuraavat vaiheet steriileissä olosuhteissa virtaushupussa ja desinfioi kryopullo 70-prosenttisella etanolilla ennen avaamista.
5. Avaa desinfioitu injektiopullo varovasti ja siirrä solususpensio 15 ml:n sentrifugiputkeen, joka sisältää 8 ml huoneenlämpöistä elatusainetta, varovasti sekoittaen.
6. Sentrifugoi seosta 300 x g:n voimakkuudella 3 minuutin ajan solujen erottamiseksi ja hävitä varovasti supernatantti, joka sisältää jäännöspakastusmediumia.
7. Suspendoidaan solupelletti varovasti uudelleen 10 ml:aan tuoretta elatusainetta. Jos solut ovat tarttuvia, jaa suspensio kahden T25-kolvin kesken; jos kyseessä ovat suspensioviljelmät, siirrä kaikki väliaine yhteen T25-kolviin solujen tehokkaan vuorovaikutuksen ja kasvun edistämiseksi.
8. Noudata vakiintuneita aliviljelyprotokollia solulinjan jatkuvan kasvun ja ylläpidon varmistamiseksi ja luotettavien kokeellisten tulosten varmistamiseksi.

Incubation Atmosphere	37 °C, 5 % $_{CO2}$, kostutettu ilmakehä.
Flask Coating	Ei mitään
Freezing Procedure	Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäässä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

Shipping Conditions	Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäässä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.
Storage Conditions	Pitkäaikaissäilytystä varten injektiopullot asetetaan höyryfaasissa olevaan nestemäiseen typpeen noin -150 - -196 °C:een. Säilytys -80 °C:ssa on hyväksyttävää vain lyhyenä välivaiheena ennen siirtoa nestemäiseen typpeen.

Laadunvalvonta ja molekyylianalyysi

Sterility	Mykoplasmakontaminaatio suljetaan pois sekä PCR-pohjaisilla määrityksillä että luminesenssiin perustuvilla mykoplasman osoitusmenetelmillä. Bakteeri-, sieni- tai hiivakontaminaation välttämiseksi soluviljelmät tarkastetaan päivittäin silmämääräisesti.