

IEC-18 cellák | 305302

Általános információk

Description

Az IEC-18 sejtvonal egy nem transzformált epitelsejtvonal, amely patkány vékonybél kriptasejtjeiből származik. Ezek a sejtek hatékonyan modellezik a vékonybélhám fiziológiás tulajdonságait, különösen a kloridionok (Cl⁻) transzportja tekintetében. Az IEC-18 sejtek kloridcsatornái különböző típusú konduktanciákat mutatnak, amelyek különböző ingerekre, például sejtduzzadásra, megnövekedett intracelluláris kalciumra (Ca²⁺) és emelkedett ciklikus AMP-re (cAMP) reagálnak. Például a duzzadás által aktivált Cl-áramok az IEC-18 sejtekben kifelé egyenirányítással és feszültségfüggetlenséggel jellemezhetők. Továbbá az IEC-18 sejtek cisztás fibrózis transzmembrán konduktancia szabályozó (CFTR) csatornákat expresszálnak, amit a cAMP-aktivált Cl-konduktancia jelenléte bizonyít, amelyet glibenclamid és 5-nitro-2-(3-fenilpropilamino)benzoesav (NPPB) gátolni képes, de a DIDS nem befolyásolja.

Az IEC-18 sejteket a sejtek túlélési mechanizmusainak vizsgálatára is használták a detachment által kiváltott stressz, az úgynevezett anoikisz alatt. A kutatások szerint a prosztaglandin E2 (PGE2) a cAMP által közvetített jelátviteli utakon keresztül elősegítheti a sejtek életképességét és aggregációját a levált IEC-18 sejtekben. Ez az anoikis elleni védelem az adenilát-cikláz és a protein-kináz A (PKA) aktiválásával függ össze, ami még felfüggesztett állapotban is fokozza a sejtek adhézióját és életképességét. Ezek az eredmények jelentősek a gyulladással kapcsolatos folyamatok és a bélszövetek karcinogeneziséhez való potenciális hozzájárulás megértéséhez.

Továbbá az IEC-18 monolayerek segítségével tanulmányozták a különböző molekulák bélgéton keresztüli transzportját. A Caco-2 sejtvonalhoz képest az IEC-18 sejtek pontosabb modellt nyújtanak a passzív transzcelluláris és paracelluláris transzporthoz, mivel szerkezetileg hasonlítanak a vékonybél kriptasejtjeihez. A Caco-2 sejtekkel ellentétben, amelyek jelentős aktív transzportképességgel rendelkeznek, az IEC-18 sejtek minimális hordozó által közvetített transzportot mutatnak, így alkalmasabb választásnak bizonyulnak a hidrofíli makromolekulák passzív permeabilitásának elemzésére.

Organism Patkány

Tissue Vékonybél, ileum

Disease Normál

Synonyms IEC 18, IEC18, 18. számú bél epithelioid sejtvonal

Jellemzők

Breed/Subspecies Charles River Sprague Dawley (CD(SD))

Age 18-24 nap

Gender Meghatározatlan

Morphology Epithelszerű

IEC-18 cellák | 305302

Cell type	Epithelsejt
------------------	-------------

Growth properties	Adherent
--------------------------	----------

Szabályozási adatok

Citation	IEC-18 (Cytion katalógusszám: 305302)
-----------------	---------------------------------------

Biosafety level	1
------------------------	---

NCBI_TaxID	10116
-------------------	-------

CellosaurusAccession	CVCL_0342
-----------------------------	-----------

Biomolekuláris adatok

A kezelése

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/L glükóz, w: 4 mM L-Glutamin, w: 3,7 g/L NaHCO ₃ , w: 1,0 mM nátrium-piruvát (Cytion cikkszám 820300a)
-----------------------	--

Supplements	A táptalajt egészítsük ki 10% FBS-szel
--------------------	--

Dissociation Reagent	Accutase
-----------------------------	----------

Subculturing	Távolítsa el a régi táptalajt a megtapadt sejtekről, és mossa őket kalcium- és magnéziummentes PBS-szel. T25-ös lombikokhoz 3-5 ml PBS-t, T75-ös lombikokhoz pedig 5-10 ml-t használjunk. Ezután fedjük be a sejteket teljesen Accutase-zal, T25 lombikok esetében 1-2 ml-t, T75 lombikok esetében 2,5 ml-t használva. A sejteket 8-10 percig hagyjuk szobahőmérsékleten inkubálni, hogy leváljanak. Az inkubálás után óvatosan keverjük össze a sejteket 10 ml tápfolyadékkal, hogy reszuszpendáljuk őket, majd centrifugáljuk 300xg-nél 3 percig. Dobja el a felülúszót, szuszpendálja újra a sejteket friss tápfolyadékban, és helyezze át őket új lombikokba, amelyek már friss tápfolyadékot tartalmaznak.
---------------------	---

Seeding density	2×10^4 sejt/cm ²
------------------------	--------------------------------------

Fluid renewal	hetente 2 alkalommal
----------------------	----------------------

IEC-18 cellák | 305302

Freeze medium

Krioprezerváló táptalajként teljes növekedési táptalajt (beleértve az FBS-t) + 10% DMSO-t használunk a megfelelő kiolvasztás utáni életképesség érdekében, vagy CM-1-et (Cytion katalógusszám: 800100), amely optimalizált ozmoprotektánsokat és metabolikus stabilizátorokat tartalmaz a regenerálódás fokozása és a krio-indukált stressz csökkentése érdekében.

Thawing and Culturing Cells

1. Ellenőrizze, hogy az injekciós üveg a szállításkor mélyhűtött marad-e, mivel a sejteket szárazjégen szállítják, hogy a szállítás során az optimális hőmérsékletet fenntartsák.
2. Átvételt követően vagy azonnal tárolja a krioampullát -150 °C alatti hőmérsékleten a sejtek integritásának megőrzése érdekében, vagy folytassa a 3. lépéssel, ha azonnali tenyésztésre van szükség.
3. Azonnali tenyésztés esetén gyorsan fel kell olvasztani az injekciós üveget úgy, hogy tiszta vízzel és antimikrobiális szerrel ellátott 37 °C -os vízfürdőbe merítjük, és 40-60 másodpercig óvatosan kevergetjük, amíg egy kis jégcsomó nem marad.
4. Az összes további lépést steril körülmények között, áramlásos elszívóban végezzük el, és nyitás előtt fertőtlenítsük a krioüveget 70%-os etanollal.
5. Óvatosan nyissa fel a fertőtlenített fiolát, és a sejtszuszpenziót óvatosan összekeverve helyezze át egy 15 ml-es centrifugacsőbe, amely 8 ml szobahőmérsékletű táptalajt tartalmaz.
6. Centrifugáljuk az elegyet $300 \times g$ -n 3 percig a sejtek szétválasztásához, és óvatosan dobjuk el a maradék fagyasztóközeget tartalmazó felülúszót.
7. Óvatosan szuszpendáljuk újra a sejtanyagot 10 ml friss táptalajban. Adhezív sejtek esetében ossza a szuszpenziót két T25-ös tenyésztőlombik között; szuszpenziós kultúrák esetében az összes tápfolyadékot tegye át egy T25-ös lombikba a hatékony sejtkölcsönhatás és növekedés elősegítése érdekében.
8. A sejtvonal folyamatos növekedése és fenntartása érdekében tartsa be a megállapított szubkultúra protokollokat, biztosítva a megbízható kísérleti eredményeket.

Incubation Atmosphere

37 °C , 5% CO_2 , párasított légkör.

Flask Coating

Nincs

Freezing Procedure

A kriokonzervált sejtvonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül -78 °C -on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

IEC-18 cellák | 305302

Shipping Conditions

A kriokonzervált sejtvonalatokat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ -on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

Storage Conditions

Hosszú távú tartósítás céljából helyezze az üvegeket gőzfázisú folyékony nitrogénbe, körülbelül -150 és $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$ közötti hőmérsékleten. A $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ -on történő tárolás csak rövid átmeneti lépésként fogadható el a folyékony nitrogénbe való átvitel előtt.

Minőségellenőrzés / Genetikai profil / HLA

Sterility

A mikoplazma-szennyeződést mind a PCR-alapú vizsgálatokkal, mind a lumineszcencia-alapú mikoplazma-kimutatási módszerekkel kizárják.

A bakteriális, gombás vagy élesztőgombás szennyeződés elkerülése érdekében a sejt kultúrákat napi vizuális ellenőrzésnek vetik alá.