Product sheet

IEC-18 cellák | 305302

Általános információk

Description	Az IEC-18 sejtvonal egy nem transzformált epitélsejtvonal, 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 (Ca^{2+}) 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 bélgáton 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 hidrofil 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

Product sheet

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 NaHCO3, 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 kriofülkét 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 x g-n 3 percig a sejtek szétválasztásához, és óvatosan dobjuk el a maradék fagyasztóközeget tartalmazó felülúszót.
7. Óvatosan szuszpendáljuk újra a sejtpelletet 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% $_{CO2}$, párásított 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.

Shipping Conditions	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.
Storage Conditions	Hosszú távú tartósítás céljából helyezze az üvegeket gőzfázisú folyékony nitrogénbe, körülbelül -150 és -196 °C közötti hőmérsékleten. A -80 °C-on történő tárolás csak rövid átmeneti lépésként fogadható el a folyékony nitrogénbe való átvitel előtt.

Minőségellenőrzés és molekuláris elemzés

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 sejtkultúrákat napi vizuális ellenőrzésnek vetik alá.