Product sheet

IEC-18 šūnas | 305302

Vispārīga informācija

Description	IEC-18 šūnu līnija ir netransformēta epitēlija šūnu līnija, kas iegūta no žurku tievās zarnas kriptas šūnām. Ir pierādīts, ka šīs šūnas efektīvi modelē tievās zarnas epitēlija fizioloģiskās īpašības, jo īpaši attiecībā uz hlorīda jonu (Cl-) transportu. Hlorīdu kanāliem IEC-18 šūnās ir atšķirīgi vadītspējas veidi, kas reaģē uz dažādiem stimuliem, piemēram, šūnu uzbriešanu, paaugstinātu intracelulārā kalcija (Ca^{2+}) un paaugstinātu cikliskā AMP (cAMP) līmeni. Piemēram, uzbriešanas aktivizētajām Cl- strāvām IEC-18 šūnās ir raksturīga iztaisnošanās uz āru un neatkarība no sprieguma. Turklāt IEC-18 šūnas ekspresē cistiskās fibrozes transmembrānu vadītspējas regulatora (CFTR) kanālus, par ko liecina cAMP aktivētā Cl- vadītspēja, ko var inhibēt ar glibenklamīdu un 5-nitro-2-(3-fenilpropilamino) benzoskābi (NPPB), bet neietekmē DIDS. IEC-18 šūnas tika izmantotas arī, lai izpētītu šūnu izdzīvošanas mehānismus atdalīšanas izraisītā stresa, kas pazīstams kā anoikis, apstākļos. Pētījumi liecina, ka prostaglandīns E2 (PGE2) var veicināt šūnu dzīvotspēju un agregāciju atdalītajās IEC-18 šūnās, izmantojot cAMP mediētus signalizācijas ceļus. Šī aizsardzība pret anoikis ir saistīta ar adenilātciklāzes un proteīnkināzes A (PKA) aktivizāciju, uzlabojot šūnu adhēziju un dzīvotspēju pat suspendētā stāvoklī. Šādi atklājumi ir nozīmīgi, lai izprastu ar iekaisumu saistītos procesus un potenciālo ietekmi uz kanceroģenēzi zarnu audos. Turklāt IEC-18 monoslāņi ir izmantoti, lai pētītu dažādu molekulu pārnesi caur zarnu barjeru. Salīdzinot ar Caco-2 šūnu līniju, IEC-18 šūnas ir precīzāks pasīvās transcelulārās un paracelulārās transportēšanas modelis, jo to struktūra ir līdzīga tievo zarnu kriptas šūnām. Atšķirībā no Caco-2 šūnām, kurām piemīt ievērojamas aktīvās transportēšanas spējas, IEC-18 šūnām ir minimāla nesēja mediēta transportēšana, tāpēc tās ir piemērotāka izvēle hidrofīlo makromolekulu pasīvās caurlaidības analīzei.
Organism	Žurkas
Tissue	Tievās zarnas, ileums
Disease	Parasts
Synonyms	IEC 18, IEC18, zarnu epitēlioīdo šūnu līnija Nr. 18

Raksturojums

Breed/Subspecies	Charles River Sprague Dawley (CD(SD))
Age	18-24 dienas
Gender	Nav norādīts
Morphology	Epitēlijveidīgs
Cell type	Epitēlija šūna

Product sheet

IEC-18 šūnas | 305302

Growth properties	Adherent

Normatīvie dati

Citation	IEC-18 (Cytion kataloga numurs 305302)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	10116
CellosaurusAccession	CVCL_0342

Biomolekulārie dati

Darbs ar

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/l glikozes, w: 4 mM L-glutamīna, w: 3,7 g/l NaHCO3, w: 1,0 mM nātrija piruvāta (Cytion izstrādājuma numurs 820300a)
Supplements	Papildināt barotni ar 10% FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Noņemt veco barotni no pielipušajām šūnām un mazgāt tās ar PBS, kurā nav kalcija un magnija. T25 kolbām izmantojiet 3-5 ml PBS, bet T75 kolbām - 5-10 ml. Pēc tam pilnībā pārklājiet šūnas ar Accutase, izmantojot 1-2 ml T25 kolbām un 2,5 ml T75 kolbām. Ļaujiet šūnām inkubēties istabas temperatūrā 8-10 minūtes, lai tās atdalītos. Pēc inkubācijas uzmanīgi samaisiet šūnas ar 10 ml barotnes, lai tās atkārtoti suspendētu, pēc tam centrifugējiet 3 minūtes ar 300xg. Izmetiet supernatantu, atkārtoti suspendējiet šūnas svaigā barotnē un pārvietojiet tās jaunās kolbās, kurās jau ir svaiga barotne.
Seeding density	2 x 10^4 šūnas/cm^2
Fluid renewal	2 reizes nedēļā
Freeze medium	Kā kriokonservēšanas barotni mēs izmantojam pilnvērtīgu augšanas barotni (ieskaitot FBS) + 10 % DMSO, lai nodrošinātu pietiekamu dzīvotspēju pēc atkausēšanas, vai CM-1 (Cytion kataloga numurs 800100), kas ietver optimizētus osmoprotektorus un metaboliskos stabilizatorus, lai uzlabotu atveseļošanos un samazinātu krioinducēto stresu.

Thawing and Culturing Cells	1. Pārliecinieties, ka pēc piegādes flakons paliek dziļi sasaldēts, jo šūnas tiek sūtītas uz sausā ledus, lai pārvadāšanas laikā saglabātu optimālu temperatūru. 2. Pēc saņemšanas vai nu nekavējoties uzglabāt kriovialu temperatūrā, kas zemāka par -150 °C, lai nodrošinātu šūnu integritātes saglabāšanu, vai arī turpināt 3. posmu, ja nepieciešama tūlītēja kultivēšana. 3. Tūlītējas kultivēšanas gadījumā ātri atkausējiet flakonu, iegremdējot to 37°C ūdens vannā ar tīru ūdeni un antibakteriālu līdzekli, viegli maisot 40-60 sekundes, līdz paliek neliels ledus gabaliņš. 4. Visas turpmākās darbības veiciet sterilos apstākļos plūsmas nosūcējā, pirms atvēršanas dezinficējot kriovialu ar 70% etanolu. 5. Uzmanīgi atveriet dezinficēto flakonu un pārnesiet šūnu suspensiju 15 ml centrifūgas mēģenē, kurā ir 8 ml istabas temperatūras barotnes, uzmanīgi samaisot. 6. Centrifugējiet maisījumu ar 300 x g 3 minūtes, lai atdalītu šūnas, un uzmanīgi izmetiet virskārtu, kas satur saldēšanas barotnes atlikumus. 7. Viegli resuspendēt šūnu granulas 10 ml svaigas barotnes. Adhēzijas šūnu gadījumā suspensiju sadalīt divās T25 kolbās; suspensijas kultūrām visu barotni pārnest vienā T25 kolbā, lai veicinātu efektīvu šūnu mijiedarbību un augšanu. 8. Ievērojiet noteiktos subkultūru protokolus, lai nodrošinātu nepārtrauktu šūnu līnijas augšanu un uzturēšanu, tādējādi nodrošinot uzticamus eksperimentu rezultātus.
Incubation Atmosphere	37°C, 5% $_{CO2}$, mitrināta atmosfēra.
Flask Coating	Neviens
Freezing Procedure	Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidruma daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

Shipping Conditions	Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidruma daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.
Storage Conditions	Ilgstošai uzglabāšanai flakonus ievietojiet šķidrā slāpeklī ar tvaika fāzi aptuveni -150 līdz -196 °C temperatūrā. Uzglabāšana -80 °C temperatūrā ir pieļaujama tikai kā īss starpposms pirms pārvietošanas uz šķidro slāpekli.

Kvalitātes kontrole un molekulārā analīze

Sterility	Mikoplazmas piesārņojums tiek izslēgts, izmantojot gan uz PCR balstītus testus, gan uz luminiscenci balstītas mikoplazmas noteikšanas metodes. Lai pārliecinātos, ka nav baktēriju, sēnīšu vai rauga piesārņojuma, šūnu kultūras katru dienu vizuāli pārbauda.