Product sheet

Bunky IEC-18 | 305302

Všeobecné informácie

Description	Bunková línia IEC-18 je netransformovaná epitelová bunková línia odvodená z buniek krypty tenkého čreva potkanov. Ukázalo sa, že tieto bunky účinne modelujú fyziologické vlastnosti epitelu tenkého čreva, najmä pokiaľ ide o transport chloridových iónov (Cl-). Chloridové kanály v bunkách IEC-18 vykazujú odlišné typy vodivosti, ktoré reagujú na rôzne podnety, ako je napríklad opuch buniek, zvýšený intracelulárny vápnik (Ca^{2+}) a zvýšený cyklický AMP (cAMP). Napríklad Cl- prúdy aktivované opuchom v bunkách IEC-18 sa vyznačujú rektifikáciou smerom von a nezávislosťou od napätia. Okrem toho bunky IEC-18 exprimujú kanály regulátora transmembránovej vodivosti pri cystickej fibróze (CFTR), o čom svedčí prítomnosť cAMP aktivovanej Cl- vodivosti, ktorú možno inhibovať glibenklamidom a 5-nitro-2-(3-fenylpropylamino)benzoovou kyselinou (NPPB), ale neovplyvňuje ju DIDS. Bunky IEC-18 sa použili aj na skúmanie mechanizmov prežitia buniek pri strese vyvolanom oddeľovaním, známom ako anoikis. Výskum naznačuje, že prostaglandín E2 (PGE2) môže podporovať životaschopnosť a agregáciu buniek v oddelených bunkách IEC-18 prostredníctvom signálnych dráh sprostredkovaných cAMP. Táto ochrana pred anoikis súvisí s aktiváciou adenylátcyklázy a proteínkinázy A (PKA), čím sa zvyšuje adhézia a životaschopnosť buniek aj v pozastavených stavoch. Takéto zistenia sú významné pre pochopenie procesov súvisiacich so zápalom a potenciálnym príspevkom ku karcinogenéze v črevných tkanivách. Okrem toho sa monovrstvy IEC-18 použili na štúdium transportu rôznych molekúl cez črevnú bariéru. V porovnaní s bunkovou líniou Caco-2 poskytujú bunky IEC-18 presnejší model pasívneho transcelulárneho a paracelulárneho transportu vďaka svojej štrukturálnej podobnosti s kryptovými bunkami tenkého čreva. Na rozdiel od buniek Caco-2, ktoré majú významné schopnosti aktívneho transportu, bunky IEC-18 vykazujú minimálny transport sprostredkovaný nosičom, čo z nich robí vhodnejšiu voľbu na analýzu pasívnej permeability hydrofilných makromolekúl.
Organism	Krysy
Tissue	Tenké črevo, ileum
Disease	Normálne
Synonyms	IEC 18, IEC18, črevná epitelová bunka č. 18

Charakteristika

Breed/Subspecies	Charles River Sprague Dawley (CD(SD))
Age	18-24 dní
Gender	Nešpecifikované
Morphology	Epitelu podobné

Product sheet

Bunky IEC-18 | 305302

Cell type	Epitelová bunka
Growth properties	Adherent

Regulačné údaje

Citation	IEC-18 (katalógové číslo Cytion 305302)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	10116
CellosaurusAccession	CVCL_0342

Biomolekulárne údaje

Spracovanie

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/l glukózy, w: 4 mM L-glutamínu, w: 3,7 g/l NaHCO3, w: 1,0 mM pyruvátu sodného (číslo výrobku Cytion 820300a)
Supplements	Doplňte médium o 10 % FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Odstráňte staré médium z adherovaných buniek a premyte ich PBS, ktorý neobsahuje vápnik a horčík. Pre banky T25 použite 3 - 5 ml PBS a pre banky T75 použite 5 - 10 ml. Potom bunky úplne pokryte Accutase, pričom použite 1 - 2 ml pre banky T25 a 2,5 ml pre banky T75. Nechajte bunky inkubovať pri izbovej teplote 8-10 minút, aby sa oddelili. Po inkubácii jemne premiešajte bunky s 10 ml média, aby boli znovu suspendované, a potom ich 3 minúty odstreďujte pri 300xg. Supernatant zlikvidujte, bunky znovu rozmiešajte v čerstvom médiu a preneste ich do nových fliaš, ktoré už obsahujú čerstvé médium.
Seeding density	2 x 10^4 buniek/cm^2
Fluid renewal	2 krát týždenne

Bunky IEC-18 | 305302

Freeze medium	Ako kryokonzervačné médium používame kompletné rastové médium (vrátane FBS) + 10 % DMSO na zabezpečenie primeranej životaschopnosti po rozmrazení alebo CM-1 (katalógové číslo 800100 spoločnosti Cytion), ktoré obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory na zlepšenie obnovy a zníženie stresu spôsobeného kryo.

Thawing and Culturing Cells

1. Overte si, že injekčná liekovka zostane pri doručení hlboko zmrazená, pretože bunky sa prepravujú na suchom ľade, aby sa počas prepravy udržala optimálna teplota.
2. Po prijatí buď okamžite uskladnite kryovialku pri teplote nižšej ako -150 °C, aby ste zabezpečili zachovanie bunkovej integrity, alebo prejdite na krok 3, ak je potrebná okamžitá kultivácia.
3. V prípade okamžitej kultivácie injekčnú liekovku rýchlo rozmrazte ponorením do vodného kúpeľa s teplotou 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálnym prostriedkom, pričom ju jemne miešajte 40 - 60 sekúnd, kým nezostane malý ľadový chumáč.
4. Všetky ďalšie kroky vykonajte v sterilných podmienkach v prietokovom digestore a pred otvorením kryovialku dezinfikujte 70 % etanolom.
5. Opatrne otvorte dezinfikovanú fľaštičku a preneste bunkovú suspenziu do 15 ml centrifugačnej skúmavky obsahujúcej 8 ml kultivačného média s izbovou teplotou a jemne premiešajte.
6. Zmes odstreďujte pri 300 x g počas 3 minút, aby sa bunky oddelili, a opatrne zlikvidujte supernatant obsahujúci zvyšky zmrazovacieho média.
7. Pelet buniek jemne resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačného média. V prípade adherentných buniek rozdeľte suspenziu medzi dve kultivačné banky T25; v prípade suspenzných kultúr preneste všetko médium do jednej banky T25, aby ste podporili účinnú interakciu a rast buniek.
8. Dodržiavajte zavedené subkultivačné protokoly na nepretržitý rast a udržiavanie bunkovej línie, čím sa zabezpečia spoľahlivé výsledky experimentov.

Incubation Atmosphere	37 °C, 5 % $_{CO2}$, zvlhčená atmosféra.
Flask Coating	Žiadne
Freezing Procedure	Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne -78 °C počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

Shipping Conditions	Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne -78 °C počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.
Storage Conditions	Na dlhodobé uchovávanie umiestnite injekčné liekovky do kvapalnej fázy dusíka v pare pri teplote približne -150 až -196 °C. Skladovanie pri teplote -80 °C je prijateľné len ako krátky prechodný krok pred presunom do tekutého dusíka.

Kontrola kvality a molekulárna analýza

Sterility	Kontaminácia mykoplazmami sa vylučuje pomocou testov založených na PCR a metód detekcie mykoplaziem založených na luminiscencii. Aby sa zabezpečilo, že nedošlo ku kontaminácii baktériami, hubami alebo kvasinkami, bunkové kultúry sa denne vizuálne kontrolujú.