

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 (Ca²⁺) 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 oddelením, 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 karcinogéze 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 štruktúrálnej 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

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 odstredíte pri 300xg. Supernatant zlikvidujte, bunky znovu rozmiešajte v čerstvom médiu a preneste ich do nových fliaš, ktoré už obsahujú čerstvé médium.**Seeding density** 2×10^4 buniek/cm²**Fluid renewal** 2 krát týždenne

Bunky IEC-18 | 305302

Freeze medium

Ako kryokonzervačné médium používame kompletne 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 regenerácie a zníženie stresu spôsobeného kryom.

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 odstreďte 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 % CO_2 , 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.

Bunky IEC-18 | 305302

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 / Genetický profil / HLA

Sterility

Kontaminácia mykoplazmami sa vylučuje pomocou testov založených na PCR a metód detekcie mykoplazmiem založených na luminiscencii.

Aby sa zabezpečilo, že nedošlo ku kontaminácii baktériami, hubami alebo kvasinkami, bunkové kultúry sa denne vizuálne kontrolujú.