Product sheet

IEC-18 Hücreleri | 305302

Genel bilgi

Description	IEC-18 hücre hattı, sıçan ince bağırsağının kript hücrelerinden türetilen, transformasyona uğramamış bir epitel hücre hattıdır. Bu hücrelerin, özellikle klorür iyonu (Cl-) taşınması açısından ince bağırsak epitelinin fizyolojik özelliklerini etkili bir şekilde modellediği gösterilmiştir. IEC-18 hücrelerindeki klorür kanalları, hücre şişmesi, hücre içi kalsiyum artışı (Ca^{2+}) ve yüksek siklik AMP (cAMP) gibi çeşitli uyaranlara yanıt veren farklı iletkenlik türleri sergiler. Örneğin, IEC-18 hücrelerindeki şişme ile aktive olan Cl- akımları, dışa doğru düzeltme ve voltaj bağımsızlığı ile karakterize edilir. Ayrıca IEC-18 hücreleri, glibenklamid ve 5-nitro-2-(3-phenylpropylamino) benzoik asit (NPPB) tarafından inhibe edilebilen ancak DIDS'ten etkilenmeyen cAMP ile aktive edilen Cl- iletkenliğinin varlığıyla kanıtlanan kistik fibroz transmembran iletkenlik düzenleyici (CFTR) kanallarını ifade eder. IEC-18 hücreleri ayrıca anoikis olarak bilinen ayrılma kaynaklı stres altında hücre hayatta kalma mekanizmalarını araştırmak için de kullanılmıştır. Araştırmalar, prostaglandin E2'nin (PGE2), cAMP aracılı sinyal yolları yoluyla ayrılmış IEC-18 hücrelerinde hücre canlılığını ve toplanmasını teşvik edebileceğini göstermektedir. Anoikise karşı bu koruma, adenilat siklaz ve protein kinaz A'nın (PKA) aktivasyonu ile ilişkilidir ve askıya alınmış durumlarda bile hücre yapışmasını ve canlılığını artırır. Bu bulgular, enflamasyonla ilgili süreçlerin ve bağırsak dokularındaki karsinogeneze potansiyel katkıların anlaşılması açısından önemlidir. Ayrıca, IEC-18 tek tabakaları çeşitli moleküllerin bağırsak bariyeri boyunca taşınmasını incelemek için kullanılmıştır. Caco-2 hücre hattı ile karşılaştırıldığında IEC-18 hücreleri, ince bağırsak kript hücrelerine yapısal benzerlikleri nedeniyle pasif transselüler ve paraselüler taşıma için daha doğru bir model sağlar. Önemli aktif taşıma yeteneklerine sahip olan Caco-2 hücrelerinin aksine, IEC-18 hücreleri minimum taşıyıcı aracılı taşıma gösterir ve bu da onları hidrofilik makromoleküllerin pasif geçirgenliğini analiz etmek için daha uygun bir seçim haline getirir.
Organism	Sıçan
Tissue	İnce bağırsak, ileum
Disease	Normal
Synonyms	IEC 18, IEC18, Bağırsak Epiteloid Hücre Hattı No. 18

Özellikler

Breed/Subspecies	Charles River Sprague Dawley (CD(SD))
Age	18-24 gün
Gender	Belirtilmemiş
Morphology	Epitel benzeri

Product sheet

IEC-18 Hücreleri | 305302

Cell type	Epitel hücre
Growth properties	Yapışık

Düzenleyici Veriler

Citation	IEC-18 (Cytion katalog numarası 305302)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	10116
CellosaurusAccession	CVCL_0342

Biyomoleküler Veriler

Elleçleme

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/L Glukoz, w: 4 mM L-Glutamin, w: 3,7 g/L NaHCO3, w: 1,0 mM Sodyum piruvat (Cytion ürün numarası 820300a)
Supplements	Ortamı %10 FBS ile takviye edin
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Yapışık hücrelerden eski ortamı çıkarın ve kalsiyum ve magnezyum içermeyen PBS ile yıkayın. T25 şişeleri için 3-5 ml PBS ve T75 şişeleri için 5-10 ml kullanın. Ardından, T25 flasklar için 1-2 ml ve T75 flasklar için 2,5 ml kullanarak hücreleri Accutase ile tamamen kaplayın. Hücreleri ayırmak için oda sıcaklığında 8-10 dakika inkübasyona bırakın. İnkübasyondan sonra, hücreleri yeniden süspanse etmek için 10 ml besiyeriyle hafifçe karıştırın, ardından 300xg'de 3 dakika santrifüjleyin. Süpernatantı atın, hücreleri taze besiyerinde yeniden süspanse edin ve zaten taze besiyeri içeren yeni şişelere aktarın.
Seeding density	2×10^4 hücre/cm^2
Fluid renewal	haftada 2 kez
Freeze medium	Kriyoprezervasyon ortamı olarak, yeterli çözülme sonrası canlılık için tam büyüme ortamı (FBS dahil) + %10 DMSO veya iyileşmeyi artırmak ve kriyo-indüklenmiş stresi azaltmak için optimize edilmiş ozmoprotektanlar ve metabolik stabilizatörler içeren CM-1 (Cytion katalog numarası 800100) kullanıyoruz.

IEC-18 Hücreleri | 305302

Thawing and Culturing Cells

1. Hücreler taşıma sırasında optimum sıcaklıkları korumak için kuru buz üzerinde gönderildiğinden, flakonun teslimat sırasında derin dondurulmuş halde kaldığını teyit edin.
2. Teslim aldıktan sonra, hücresel bütünlüğün korunmasını sağlamak için kriyoviali hemen -150°C'nin altındaki sıcaklıklarda saklayın veya hemen kültürleme gerekiyorsa 3. adıma geçin.
3. Derhal kültürleme için flakonu temiz su ve antimikrobiyal bir madde içeren 37°C'lik bir su banyosuna daldırıp küçük bir buz kümesi kalana kadar 40-60 saniye boyunca hafifçe çalkalayarak hızlıca çözün.
4. Sonraki tüm adımları steril koşullar altında bir akış başlığı içinde gerçekleştirin ve açmadan önce kriyoviyalleri %70 etanol ile dezenfekte edin.
5. Dezenfekte edilmiş flakonu dikkatlice açın ve hücre süspansiyonunu 8 ml oda sıcaklığında kültür ortamı içeren 15 ml'lik bir santrifüj tüpüne aktarın ve hafifçe karıştırın.
6. Hücreleri ayırmak için karışımı 300 x g'de 3 dakika santrifüjleyin ve artık dondurma ortamı içeren süpernatantı dikkatlice atın.
7. Hücre peletini 10 ml taze kültür ortamında yavaşça yeniden süspanse edin. Yapışık hücreler için, süspansiyonu iki T25 kültür şişesi arasında bölün; süspansiyon kültürleri için, etkili hücre etkileşimini ve büyümesini teşvik etmek üzere tüm ortamı tek bir T25 şişesine aktarın.
8. Hücre hattının sürekli büyümesi ve bakımı için belirlenmiş alt kültür protokollerine uyun ve güvenilir deneysel sonuçlar elde edin.

Incubation Atmosphere	37°C, %5 $_{CO2}$, nemlendirilmiş atmosfer.
Flask Coating	Yok
Freezing Procedure	Kriyoprezerve edilmiş hücre hatları, nakliye boyunca yaklaşık -78 °C'yi korumak için yeterli soğutucu akışkan içeren, onaylanmış, yalıtılmış ambalajlarda kuru buz üzerinde gönderilir. Teslim aldığınızda, kabı hemen inceleyin ve flakonları gecikmeden uygun depoya aktarın.
Shipping Conditions	Kriyoprezerve edilmiş hücre hatları, nakliye boyunca yaklaşık -78 °C'yi korumak için yeterli soğutucu akışkan içeren, onaylanmış, yalıtılmış ambalajlarda kuru buz üzerinde gönderilir. Teslim aldığınızda, kabı hemen inceleyin ve flakonları gecikmeden uygun depoya aktarın.

Storage Conditions	Uzun süreli muhafaza için flakonları yaklaşık -150 ila -196 °C'de buhar fazlı sıvı nitrojen içine yerleştirin. 80 °C'de saklama yalnızca sıvı nitrojene aktarılmadan önce kısa bir ara adım olarak kabul edilebilir.

Kalite Kontrol ve Moleküler Analiz

Sterility	Mikoplazma kontaminasyonu hem PCR tabanlı tahliller hem de lüminesans tabanlı mikoplazma tespit yöntemleri kullanılarak dışlanır. Bakteriyel, fungal veya maya kontaminasyonu olmadığından emin olmak için hücre kültürleri günlük görsel incelemelere tabi tutulur.