IEC-18

305302

VISPĀRĪGA INFORMĀCIJA

Apraksts

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.

Audums	Tievās zarnas, ileums
Slimība	Parasts

Sinonīmi

- IEC 18
- IEC18
- Intestinal Epithelioid Cell line No. 18

KLASIFIKĀCIJA

Organisms	Žurka
Sekss	Nav norādīts
Augšanas īpašības	Atbalstītājs
Bioloģiskās drošības līmenis	1

RAKSTURLIELUMI

Morfoloģija	Epitēlijveidīgs
Šūnu tips	Epitēlija šūna

IDENTIFIKATORI

Atsauce

IEC-18 (Cytion kataloga numurs 305302)

NCBI nodokļu identifikācijas numurs	10116

Cellosaurus	CVCL_0342

APSTRĀDE UN AUDZĒŠANA

Barotne

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)

Inkubācijas vide	37°C, 5%CO2, mitrināta atmosfēra.

Papildinājumi

Papildināt barotni ar 10% FBS

Disociācijas reaģents	Accutase

Pārstādīšana

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.

Sēšanas blīvums	2 x 10^4 šūnas/cm^2
Šķidruma atjaunošana	2 reizes nedēļā

Atkausēšana un kultivēšana

Confirm that the vial remains deeply frozen upon delivery, as cells are shipped on dry ice to maintain optimal temperatures during transit.
Upon receipt, either store the cryovial immediately at temperatures below -150°C to ensure the preservation of cellular integrity, or proceed to step 3 if immediate culturing is required.
For immediate culturing, swiftly thaw the vial by immersing it in a 37°C water bath with clean water and an antimicrobial agent, agitating gently for 40-60 seconds until a small ice clump remains.
Perform all subsequent steps under sterile conditions in a flow hood, disinfecting the cryovial with 70% ethanol before opening.
Carefully open the disinfected vial and transfer the cell suspension into a 15 ml centrifuge tube containing 8 ml of room-temperature culture medium, mixing gently.
Centrifuge the mixture at 300 x g for 3 minutes to separate the cells and carefully discard the supernatant containing residual freezing medium.
Gently resuspend the cell pellet in 10 ml of fresh culture medium. For adherent cells, divide the suspension between two T25 culture flasks; for suspension cultures, transfer all the medium into one T25 flask to promote effective cell interaction and growth.
Adhere to established subculture protocols for continued growth and maintenance of the cell line, ensuring reliable experimental outcomes.

KVALITĀTES KONTROLE UN KRIOKONSERVĀCIJA

Sterilitāte

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.

Saldēšanas barotne	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.

Uzglabāšanas nosacījumi

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.

Piegādes nosacījumi

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.

ZIEDOTĀJS

Šķirne / pasuga	Charles River Sprague Dawley (CD(SD))
Donora vecums	18-24 dienas

JURIDISKIE JAUTĀJUMI UN DROŠĪBA

Drošības pasākumi

Plānojot uzglabāt kriokviālu šķidrā slāpeklī turpmākai atkausēšanai, obligāti jāievēro stingri drošības pasākumi. Ir nepieciešami piemēroti aizsargcimdi un apģērbs, un, pārvietojot sasaldētos paraugus uz šķidrā slāpekļa tvertni vai no tās, ir jālieto sejas maska vai aizsargbrilles. Tas jādara, lai mazinātu traumu risku, ko var radīt iespējamas kriokrioviālu eksplozijas, kas var izraisīt asu fragmentu izmešanu.

Garantija

Uzņēmumā Cytion mēs atbalstām savu produktu kvalitāti un dzīvotspēju.
Mēs garantējam, ka mūsu šūnas būs dzīvotspējīgas kultivēšanas sākumā 60 dienas pēc nosūtīšanas no mūsu ražotnēm.
Mēs nodrošinām, ka visi materiāli atbilst analīzes sertifikātā un/vai produkta lapā aprakstītajām specifikācijām
Lai iegūtu sīkāku informāciju, lūdzu, skatiet mūsu <a href=""/"/Kas mēs esam/garantija/"" hreflang=""x-default"">Garantijas paziņojumu

Nepieciešams materiālu nodošanas līgums	Yes

INFORMĀCIJA PAR PRODUKTU

Sastāva tabula