Product sheet

Клетки IEC-18 | 305302

Обща информация

Description	Клетъчната линия IEC-18 е нетрансформирана епителна клетъчна линия, получена от криптоклетките на тънките черва на плъхове. Доказано е, че тези клетки ефективно моделират физиологичните свойства на тънкочревния епител, особено по отношение на транспорта на хлоридни йони (Cl-). Хлоридните канали в клетките IEC-18 показват различни видове проводимости, които реагират на различни стимули, като например подуване на клетките, повишен вътреклетъчен калций (Ca^{2+}) и повишен цикличен АМФ (cAMP). Например, активираните от набъбване Cl- токове в клетките IEC-18 се характеризират с изходяща ректификация и независимост от напрежението. Освен това клетките IEC-18 експресират каналите на регулатора на трансмембранната проводимост при муковисцидоза (CFTR), за което свидетелства наличието на активирани от cAMP Cl- проводимости, които могат да бъдат инхибирани от глибенкламид и 5-нитро-2-(3-фенилпропиламино) бензоена киселина (NPPB), но не се повлияват от DIDS. Клетките IEC-18 са използвани и за изследване на механизмите за оцеляване на клетките при стрес, предизвикан от откъсване, известен като аноикис. Изследванията показват, че простагландин E2 (PGE2) може да стимулира жизнеспособността и агрегацията на клетките в откъснати IEC-18 клетки чрез cAMP-медиирани сигнални пътища. Тази защита от анойкис е свързана с активирането на аденилатциклаза и протеинкиназа A (PKA), което повишава адхезията и жизнеспособността на клетките дори в спрени състояния. Тези открития са от значение за разбирането на процесите, свързани с възпалението, и потенциалния принос към канцерогенезата в чревните тъкани. Освен това монослоеве от IEC-18 са използвани за изследване на преноса на различни молекули през чревната бариера. В сравнение с клетъчната линия Caco-2 клетките IEC-18 предоставят по-точен модел за пасивен трансцелуларен и парацелуларен транспорт поради структурните си прилики с криптоклетките на тънките черва. За разлика от клетките Caco-2, които притежават значителни възможности за активен транспорт, клетките IEC-18 демонстрират минимален транспорт, опосредстван от носител, което ги прави по-подходящ избор за анализ на пасивната пропускливост на хидрофилни макромолекули.
Organism	Плъх
Tissue	Тънки черва, илеум
Disease	Нормален
Synonyms	IEC 18, IEC18, чревна епителиоидна клетъчна линия № 18

Характеристики

Breed/Subspecies	Charles River Sprague Dawley (CD(SD))
Age	18-24 дни
Gender	Неуточнено

Клетки IEC-18 | 305302

Morphology	Подобни на епител
Cell type	Епителна клетка
Growth properties	Придържащи се

Регулаторни данни

Citation	IEC-18 (каталожен номер 305302 на Cytion)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	10116
CellosaurusAccession	CVCL_0342

Биомолекулярни данни

Работа с

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/L глюкоза, w: 4 mM L-глутамин, w: 3,7 g/L NaHCO3, w: 1,0 mM натриев пируват (номер на изделието на Cytion 820300a)
Supplements	Допълнете средата с 10% FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Отстранете старата среда от адхезивните клетки и ги промийте с PBS, която не съдържа калций и магнезий. За колби T25 използвайте 3-5 ml PBS, а за колби T75 - 5-10 ml. След това покрийте клетките изцяло с Accutase, като използвате 1-2 ml за колби T25 и 2,5 ml за колби T75. Оставете клетките да се инкубират на стайна температура за 8-10 минути, за да се отделят. След инкубацията внимателно разбъркайте клетките с 10 ml среда, за да ги ресуспендирате, след което центрофугирайте при 300xg за 3 минути. Изхвърлете супернатантата, ресуспендирайте клетките в прясна среда и ги прехвърлете в нови колби, които вече съдържат прясна среда.
Seeding density	2×10^{4} клетки/см2
Fluid renewal	2 пъти седмично

Клетки IEC-18 | 305302

Freeze medium	Като среда за криоконсервация използваме пълна среда за растеж (включително FBS) + 10% DMSO за адекватна жизнеспособност след размразяване или CM-1 (каталожен номер 800100 на Cytion), която включва оптимизирани осмопротектори и метаболитни стабилизатори за подобряване на възстановяването и намаляване на криоиндуцирания стрес.

Thawing and Culturing Cells

1. Уверете се, че флаконът остава дълбоко замразен при доставката, тъй като клетките се транспортират със сух лед, за да се поддържат оптимални температури по време на транспортирането.

2. При получаване съхранявайте незабавно криовиолата при температури под -150 °C, за да осигурите запазване на клетъчната цялост, или преминете към стъпка 3, ако е необходимо незабавно култивиране.

3. За незабавно култивиране бързо размразете флакона, като го потопите във водна баня с чиста вода и антимикробен агент с температура 37°C, като разбърквате внимателно в продължение на 40-60 секунди, докато остане малка ледена бучка.

4. Извършвайте всички следващи стъпки при стерилни условия в аспиратор, като преди отваряне дезинфекцирате криовиолата със 70% етанол.

5. Внимателно отворете дезинфекцирания флакон и прехвърлете клетъчната суспензия в 15 ml центрофужна епруветка, съдържаща 8 ml хранителна среда със стайна температура, като разбъркате внимателно.

6. Центрофугирайте сместа при 300 x g в продължение на 3 минути, за да отделите клетките, и внимателно изхвърлете супернатантата, съдържаща остатъчна замразяваща среда.

7. Внимателно ресуспендирайте клетъчната пелета в 10 ml прясна хранителна среда. За адхезивни клетки разделете суспензията между две колби T25; за суспензионни култури прехвърлете цялата среда в една колба T25, за да стимулирате ефективното взаимодействие и растеж на клетките.

8. Придържайте се към установените протоколи за субкултивиране за непрекъснат растеж и поддържане на клетъчната линия, като гарантирате надеждни експериментални резултати.

Incubation Atmosphere	37°C, 5%$_{CO2}$, овлажнена атмосфера.
Flask Coating	Няма

Клетки IEC-18 | 305302

Freezing Procedure	Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително -78 °C по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.
Shipping Conditions	Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед в утвърдени, изолирани опаковки с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително -78 °C по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.
Storage Conditions	За дълготрайно съхранение поставете флаконите в течен азот в парна фаза при температура около -150 до -196 °C. Съхранението при -80 °C е приемливо само като кратък междинен етап преди прехвърлянето в течен азот.

Контрол на качеството и молекулярен анализ

Sterility	Замърсяването с микоплазма се изключва както чрез PCR-базирани анализи, така и чрез луминесцентни методи за откриване на микоплазма. За да се гарантира, че няма бактериално, гъбично или дрождево замърсяване, клетъчните култури се подлагат на ежедневни визуални проверки.