

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 (Ca²⁺) и повишен цикличен АМФ (сAMP). Например, активираният 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 сAMP 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 аноикс. Изследванията показват, че простагландин E2 (PGE2) може да стимулира жизнеспособността и агрегацията на клетките в откъснати IEC-18 клетки чрез сAMP-медираните сигнални пътища. Тази защита от аноикс е свързана с активирането на аденилатциклаза и протеинкиназа А (РКА), 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 Сасо-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 Сасо-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 ресуспендирайте, 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/cm²

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 или съхранявайте незабавно криовиолата при температури под $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, 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 антимикуробен агент с температура $37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 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 разбърквате внимателно.
6. Центрофугирайте сместа при $300 \times g$ 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

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , 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 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.

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 / Генетичен профил / HLA

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.