Product sheet

Cellule IEC-18 | 305302

Informazioni generali

Description	La linea cellulare IEC-18 è una linea cellulare epiteliale non trasformata derivata dalle cellule della cripta dell'intestino tenue di ratto. È stato dimostrato che queste cellule modellano efficacemente le proprietà fisiologiche dell'epitelio dell'intestino tenue, in particolare per quanto riguarda il trasporto dello ione cloruro (Cl-). I canali del cloruro nelle cellule IEC-18 presentano tipi distinti di conduttanze che rispondono a vari stimoli come il rigonfiamento cellulare, l'aumento del calcio intracellulare (Ca^{2+}) e l'aumento dell'AMP ciclico (cAMP). Ad esempio, le correnti di Cl- attivate dal rigonfiamento nelle cellule IEC-18 sono caratterizzate da rettificazione verso l'esterno e indipendenza dal voltaggio. Inoltre, le cellule IEC-18 esprimono canali regolatori della conduttanza transmembrana della fibrosi cistica (CFTR), come dimostra la presenza di conduttanze Cl- attivate da cAMP che possono essere inibite dalla glibenclamide e dall'acido 5-nitro-2-(3-fenilpropilammino) benzoico (NPPB), ma non dalla DIDS. Le cellule IEC-18 sono state utilizzate anche per esplorare i meccanismi di sopravvivenza cellulare in condizioni di stress indotto dal distacco, noto come anoikis. La ricerca indica che la prostaglandina E2 (PGE2) può promuovere la vitalità e l'aggregazione cellulare nelle cellule IEC-18 distaccate attraverso vie di segnalazione mediate da cAMP. Questa protezione dall'anoikis è associata all'attivazione dell'adenilato ciclasi e della protein chinasi A (PKA), migliorando l'adesione e la vitalità delle cellule anche negli stati di sospensione. Questi risultati sono significativi per la comprensione dei processi legati all'infiammazione e del potenziale contributo alla carcinogenesi nei tessuti intestinali. Inoltre, i monostrati IEC-18 sono stati impiegati per studiare il trasporto di varie molecole attraverso la barriera intestinale. Rispetto alla linea cellulare Caco-2, le cellule IEC-18 forniscono un modello più accurato per il trasporto passivo transcellulare e paracellulare, grazie alla loro somiglianza strutturale con le cellule della cripta dell'intestino tenue. A differenza delle cellule Caco-2, che possiedono significative capacità di trasporto attivo, le cellule IEC-18 dimostrano un trasporto mediato da un vettore minimo, rendendole una scelta più adatta per analizzare la permeabilità passiva di macromolecole idrofile.
Organism	Ratto
Tissue	Intestino tenue, ileo
Disease	Normale
Synonyms	IEC 18, IEC18, linea cellulare epitelioide intestinale n. 18

Caratteristiche

Breed/Subspecies	Charles River Sprague Dawley (CD(SD))
Age	18-24 giorni
Gender	Non specificato

Cellule IEC-18 | 305302

Morphology	Simile all'epitelio
Cell type	Cellula epiteliale
Growth properties	Aderente

Dati normativi

Citation	IEC-18 (numero di catalogo Cytion 305302)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	10116
CellosaurusAccession	CVCL_0342

Dati biomolecolari

Manipolazione

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/L di glucosio, w: 4 mM di L-Glutammina, w: 3,7 g/L di NaHCO3, w: 1,0 mM di piruvato di sodio (articolo Cytion numero 820300a)
Supplements	Integrare il terreno di coltura con il 10% di FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Rimuovere il vecchio terreno dalle cellule aderenti e lavarle con PBS privo di calcio e magnesio. Per le fiasche T25, utilizzare 3-5 ml di PBS e per le fiasche T75, 5-10 ml. Quindi, coprire completamente le cellule con Accutase, utilizzando 1-2 ml per le fiasche T25 e 2,5 ml per le fiasche T75. Lasciare incubare le cellule a temperatura ambiente per 8-10 minuti per staccarle. Dopo l'incubazione, mescolare delicatamente le cellule con 10 ml di terreno per risospenderle, quindi centrifugare a 300xg per 3 minuti. Scartare il surnatante, risospendere le cellule in terreno fresco e trasferirle in nuove fiasche contenenti terreno fresco.
Split ratio	Si consiglia un rapporto da 1:3 a 1:6
Seeding density	2 x 10^4 cellule/cm^2
Fluid renewal	2 volte a settimana

Cellule IEC-18 | 305302

Freeze medium	Come terreno di crioconservazione, utilizziamo un terreno di crescita completo (incluso FBS) + 10% DMSO per un'adeguata vitalità post-scongelamento, o CM-1 (numero di catalogo Cytion 800100), che include osmoprotettori e stabilizzatori metabolici ottimizzati per migliorare il recupero e ridurre lo stress crio-indotto.
Thawing and Culturing Cells	1. Verificare che la fiala rimanga profondamente congelata al momento della consegna, poiché le cellule vengono spedite con ghiaccio secco per mantenere le temperature ottimali durante il trasporto. 2. Al ricevimento, conservare immediatamente la criovial a temperature inferiori a -150°C per garantire la conservazione dell'integrità cellulare, oppure procedere al punto 3 se è necessaria una coltura immediata. 3. Per la coltura immediata, scongelare rapidamente la fiala immergendola in un bagno d'acqua a 37°C con acqua pulita e un agente antimicrobico, agitando delicatamente per 40-60 secondi finché non rimane un piccolo grumo di ghiaccio. 4. Eseguire tutte le fasi successive in condizioni di sterilità in una cappa a flusso, disinfettando la criovial con etanolo al 70% prima dell'apertura. 5. Aprire con cautela la fiala disinfettata e trasferire la sospensione cellulare in una provetta da centrifuga da 15 ml contenente 8 ml di terreno di coltura a temperatura ambiente, mescolando delicatamente. 6. Centrifugare la miscela a 300 x g per 3 minuti per separare le cellule e scartare con cura il surnatante contenente il terreno di coltura residuo. 7. Risospendere delicatamente il pellet cellulare in 10 ml di terreno di coltura fresco. Per le cellule aderenti, dividere la sospensione tra due fiasche di coltura T25; per le colture in sospensione, trasferire tutto il terreno in una fiasca T25 per promuovere l'interazione e la crescita delle cellule. 8. Attenersi ai protocolli di subcoltura stabiliti per la crescita e il mantenimento continui della linea cellulare, garantendo risultati sperimentali affidabili.
Incubation Atmosphere	37°C, 5%$_{CO2}$, atmosfera umidificata.
Flask Coating	Nessuno
Freezing Procedure	Le linee cellulari crioconservate vengono spedite su ghiaccio secco in confezioni isolate e convalidate, con una quantità di refrigerante sufficiente a mantenere circa -78 °C durante il trasporto. Al ricevimento, ispezionare immediatamente il contenitore e trasferire immediatamente le fiale in un luogo di conservazione appropriato.

Cellule IEC-18 | 305302

Shipping Conditions	Le linee cellulari crioconservate vengono spedite su ghiaccio secco in confezioni isolate e convalidate, con una quantità di refrigerante sufficiente a mantenere circa -78 °C durante il trasporto. Al ricevimento, ispezionare immediatamente il contenitore e trasferire immediatamente le fiale in un luogo di conservazione appropriato.
Storage Conditions	Per la conservazione a lungo termine, porre le fiale in azoto liquido in fase vapore a una temperatura compresa tra -150 e -196 °C circa. La conservazione a -80 °C è accettabile solo come breve fase intermedia prima del trasferimento in azoto liquido.

Controllo qualità e analisi molecolare

Sterility	La contaminazione da micoplasma viene esclusa utilizzando sia saggi basati sulla PCR sia metodi di rilevamento del micoplasma basati sulla luminescenza. Per garantire l'assenza di contaminazione batterica, fungina o da lieviti, le colture cellulari sono sottoposte a ispezioni visive quotidiane.