

## IEC-18 ląstelės | 305302

## Bendra informacija

## Description

IEC-18 ląstelių linija yra netransformuota epitelio ląstelių linija, gauta iš žiurkių plonosios žarnos kriptos ląstelių. Įrodyta, kad šios ląstelės veiksmingai modeliuoja fiziologines plonosios žarnos epitelio savybes, ypač susijusias su chlorido jonų (Cl<sup>-</sup>) pernaša. IEC-18 ląstelėse chloridų kanalai pasižymi skirtingais laidumo tipais, kurie reaguoja į įvairius dirgiklius, pavyzdžiui, ląstelių patinimą, padidėjusį viduląstelinį kalcį (Ca<sup>2+</sup>) ir padidėjusį ciklinio AMP (cAMP) kiekį. Pavyzdžiui, IEC-18 ląstelėse suaktyvintoms Cl<sup>-</sup> srovėms būdingas ištiesinimas į išorę ir nepriklausomybė nuo įtampos. Be to, IEC-18 ląstelės ekspresuoja cistinės fibrozės transmembraninio laidumo reguliatoriaus (CFTR) kanalus, tai rodo cAMP aktyvuotas Cl<sup>-</sup> laidumas, kurį galima slopinti glibenklamidu ir 5-nitro-2-(3-fenilpropilamino) benzenkarboksirūgštimi (NPPB), bet neveikia DIDS.

IEC-18 ląstelės taip pat buvo naudojamos tiriant ląstelių išlikimo mechanizmus, kai jos patiria atskyrimo sukeltą stresą, vadinamą anoikis. Tyrimai rodo, kad prostaglandinas E2 (PGE2) gali skatinti ląstelių gyvybingumą ir agregaciją atsiskyrusiose IEC-18 ląstelėse per cAMP tarpininkaujamus signalinius kelius. Ši apsauga nuo anoikis yra susijusi su adenilato ciklazės ir baltymų kinazės A (PKA) aktyvinimu, didinančiu ląstelių sukibimą ir gyvybingumą net sustabdytose būsenose. Tokie rezultatai yra svarbūs siekiant suprasti su uždegimu susijusius procesus ir galimą indėlį į kancerogenezę žarnyno audiniuose.

Be to, IEC-18 monosluoksniai buvo naudojami tiriant įvairių molekulių pernešimą per žarnyno barjerą. Palyginti su Caco-2 ląstelių linija, IEC-18 ląstelės yra tikslesnis pasyvaus transceliulinio ir paraceliulinio pernešimo modelis dėl jų struktūrinio panašumo į plonosios žarnos kriptos ląsteles. Kitaip nei Caco-2 ląstelės, turinčios dideles aktyvias pernašos galimybes, IEC-18 ląstelės pasižymi minimalia pernaša, todėl jos yra tinkamesnis pasirinkimas hidrofiliųjų makromolekulių pasyviai pralaidumui analizuoti.

## Organism

Žiurkės

## Tissue

Plonoji žarna, klubinė žarna

## Disease

Normalus

## Synonyms

IEC 18, IEC18, žarnyno epiteloidinių ląstelių linija Nr. 18

## Charakteristikos

## Breed/Subspecies

Charles River Sprague Dawley (CD(SD))

## Age

18-24 dienos

## Gender

Nenustatyta

## Morphology

Į epitelį panašus

## Cell type

Epitelinė ląstelė

## IEC-18 ląstelės | 305302

**Growth properties** Prigludęs

## Reguliavimo duomenys

**Citation** IEC-18 (Cytion katalogo numeris 305302)

**Biosafety level** 1

**NCBI\_TaxID** 10116

**CellosaurusAccession** CVCL\_0342

## Biomolekuliniai duomenys

## Tvarkymas

**Culture Medium** DMEM, š: 4,5 g/l gliukozės, š: 4 mM L-glutamino, š: 3,7 g/l NaHCO<sub>3</sub>, š: 1,0 mM natrio piruvato (Cytion gaminio numeris 820300a)

**Supplements** Papildykite terpę 10 % FBS

**Dissociation Reagent** Accutase

**Subculturing** Pašalinkite seną terpę nuo prilipusių ląstelių ir nuplaukite jas PBS, kuriame nėra kalcio ir magnio. T25 kolboms naudokite 3-5 ml PBS, o T75 kolboms - 5-10 ml. Tuomet visiškai užpilkite ląsteles "Accutase", naudodami 1-2 ml T25 kolboms ir 2,5 ml T75 kolboms. Leiskite ląstelėms inkubuotis kambario temperatūroje 8-10 minučių, kad jos atsiskirtų. Po inkubacijos atsargiai sumaišykite ląsteles su 10 ml terpės, kad jos vėl suspenduotų, tada 3 minutes centrifuguokite 300xg greičiu. Išmeskite supernatantą, vėl sutirpinkite ląsteles šviežioje terpėje ir perkelkite jas į naujas kolbas, kuriose jau yra šviežia terpė.

**Seeding density**  $2 \times 10^4$  ląstelės/cm<sup>2</sup>

**Fluid renewal** 2 kartus per savaitę

**Freeze medium** Kaip kriokonservavimo terpę naudojame visišką augimo terpę (įskaitant FBS) + 10 % DMSO, kad būtų užtikrintas tinkamas gyvybingumas po atšildymo, arba CM-1 (Cytion katalogo numeris 800100), kurioje yra optimizuotų osmoprotektorių ir medžiagų apykaitos stabilizatorių, kad būtų pagerintas atsigavimas ir sumažintas kriokonservavimo sukeltas stresas.

## IEC-18 ląstelės | 305302

### Thawing and Culturing Cells

1. Patikrinkite, ar pristatant buteliuką jis išlieka gerai užšaldytas, nes ląstelės gabenamos ant sauso ledo, kad gabenimo metu būtų palaikoma optimali temperatūra.
2. Gavę iš karto laikykite kriovialą žemesnėje nei  $-150^{\circ}\text{C}$  temperatūroje, kad užtikrintumėte ląstelių vientisumo išsaugojimą, arba pereikite prie 3 veiksmo, jei reikia nedelsiant kultivuoti.
3. Jei norite nedelsiant pradėti kultivuoti, greitai atšildykite buteliuką panardindami jį į  $37^{\circ}\text{C}$  temperatūros vandens vonelę su švariu vandeniu ir antimikrobine priemone, švelniai maišydami 40-60 sekundžių, kol liks nedidelis ledo gabalėlis.
4. Visus tolesnius veiksmus atlikite steriliomis sąlygomis srauto gaubte, prieš atidarydami kriovialą dezinfekuokite jį 70 % etanoliu.
5. Atsargiai atidarykite dezinfekuotą buteliuką ir perpilkite ląstelių suspensiją į 15 ml centrifugos mėgintuvėlį, kuriame yra 8 ml kambario temperatūros mitybinės terpės, atsargiai išmaišykite.
6. Mišinį centrifuguokite 300 x g greičiu 3 minutes, kad atsiskirtų ląstelės, ir atsargiai išmeskite supernatantą su šaldymo terpės likučiais.
7. Švelniai resuspenduokite ląstelių granules 10 ml šviežios mitybinės terpės. Jei ląstelės yra prigludusios, suspensiją padalykite į dvi T25 kolbas; jei tai suspensinės kultūros, visą terpę perkelti į vieną T25 kolbą, kad paskatintumėte veiksmingą ląstelių sąveiką ir augimą.
8. Laikykitės nustatytų subkultūrų protokolų, kad ląstelių linija nuolat augtų ir būtų palaikoma, taip užtikrinant patikimus eksperimentų rezultatus.

### Incubation Atmosphere

$37^{\circ}\text{C}$ , 5 %  $\text{CO}_2$ , drėkintoje atmosferoje.

### Flask Coating

Nėra

### Freezing Procedure

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug  $-78^{\circ}\text{C}$  temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelti mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

### Shipping Conditions

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug  $-78^{\circ}\text{C}$  temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelti mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

**IEC-18 ląstelės | 305302**

**Storage  
Conditions**

Norėdami ilgai saugoti, įdėkite buteliukus į garų fazės skystą azotą maždaug -150-196 °C temperatūroje. Laikymas -80 °C temperatūroje yra priimtinas tik kaip trumpas tarpinis etapas prieš perkeliant į skystąjį azotą.

**Kokybės kontrolė / Genetinis profilis / HLA**

**Sterility**

Mikoplazmos užterštumas atmetamas taikant PGR pagrįstus tyrimus ir liuminescencinius mikoplazmos aptikimo metodus.

Siekiant užtikrinti, kad nebūtų užteršimo bakterijomis, grybeliais ar mielėmis, ląstelių kultūros kasdien vizualiai tikrinamos.