

Komórki IEC-18 | 305302**Informacje ogólne****Description**

Linia komórkowa IEC-18 to nietransformowana linia komórek nabłonkowych pochodząca z komórek krypt jelita cienkiego szczura. Wykazano, że komórki te skutecznie modelują fizjologiczne właściwości nabłonka jelita cienkiego, szczególnie w odniesieniu do transportu jonów chlorkowych (Cl⁻). Kanały chlorkowe w komórkach IEC-18 wykazują różne typy przewodnictwa, które reagują na różne bodźce, takie jak obrzęk komórek, zwiększony poziom wapnia wewnątrzkomórkowego (Ca²⁺) i podwyższony poziom cyklicznego AMP (cAMP). Na przykład, aktywowane pęcznieniem prądy Cl⁻ w komórkach IEC-18 charakteryzują się prostowaniem na zewnątrz i niezależnością od napięcia. Co więcej, komórki IEC-18 wykazują ekspresję kanałów CFTR (cystic fibrosis transmembrane conductance regulator), o czym świadczy obecność aktywowanego cAMP przewodnictwa Cl⁻, które może być hamowane przez glibenklamid i kwas 5-nitro-2-(3-fenylopropyloamino) benzoesowy (NPPB), ale nie ma na nie wpływu DIDS.

Komórki IEC-18 zostały również wykorzystane do zbadania mechanizmów przeżycia komórek pod wpływem stresu wywołanego oderwaniem, znanego jako anoikis. Badania wskazują, że prostaglandyna E2 (PGE2) może promować żywotność i agregację komórek w odłączonych komórkach IEC-18 poprzez szlaki sygnałowe, w których pośredniczy cAMP. Ta ochrona przed anoikis jest związana z aktywacją cyklazy adenylanowej i kinazy białkowej A (PKA), zwiększając adhezję i żywotność komórek nawet w stanie zawieszenia. Takie odkrycia są istotne dla zrozumienia procesów związanych ze stanem zapalnym i potencjalnym wkładem w karcynogenezę w tkankach jelitowych.

Ponadto, monowarstwy IEC-18 zostały wykorzystane do badania transportu różnych cząsteczek przez barierę jelitową. W porównaniu z linią komórkową Caco-2, komórki IEC-18 zapewniają dokładniejszy model pasywnego transportu przezkomórkowego i parakomórkowego ze względu na ich strukturalne podobieństwo do komórek krypt jelita cienkiego. W przeciwieństwie do komórek Caco-2, które posiadają znaczne możliwości aktywnego transportu, komórki IEC-18 wykazują minimalny transport za pośrednictwem nośnika, co czyni je bardziej odpowiednim wyborem do analizy biernej przepuszczalności hydrofilowych makrocząsteczek.

Organism Szczur**Tissue** Jelito cienkie, jelito kręte**Disease** Normalny**Synonyms** IEC 18, IEC18, jelitowa nabłonkowa linia komórkowa nr 18**Charakterystyka****Breed/Subspecies** Charles River Sprague Dawley (CD(SD))**Age** 18-24 dni**Gender** Nieokreślony

Komórki IEC-18 | 305302**Morphology** Podobny do nabłonka**Cell type** Komórka nabłonkowa**Growth properties** Adherent**Dane regulacyjne****Citation** IEC-18 (numer katalogowy Cytion 305302)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 10116**CellosaurusAccession** CVCL_0342**Dane biomolekularne****Obsługa****Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/l glukozy, w: 4 mM L-glutaminy, w: 3,7 g/l NaHCO₃, w: 1,0 mM pirogronianu sodu (numer artykułu Cytion 820300a)**Supplements** Uzupelnic podloze 10% FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Usuń starą pożywkę z przylegających komórek i przemyj je PBS, który nie zawiera wapnia i magnezu. W przypadku kolb T25 należy użyć 3-5 ml PBS, a w przypadku kolb T75 5-10 ml. Następnie całkowicie pokryj komórki Accutase, używając 1-2 ml dla kolb T25 i 2,5 ml dla kolb T75. Pozwól komórkom inkubować w temperaturze pokojowej przez 8-10 minut, aby je oddzielić. Po inkubacji delikatnie wymieszaj komórki z 10 ml pożywki, aby ponownie je zawiesić, a następnie odwiruj przy 300xg przez 3 minuty. Odrzuć supernatant, ponownie zawiesić komórki w świeżej pożywce i przenieść je do nowych kolb zawierających już świeżą pożywkę.**Split ratio** Zalecane są proporcje od 1:3 do 1:6**Seeding density** 2×10^4 komórek/cm²**Fluid renewal** 2 razy w tygodniu

Komórki IEC-18 | 305302

Freeze medium

Jako pożywki do kriokonserwacji używamy kompletnej pożywki wzrostowej (w tym FBS) + 10% DMSO w celu zapewnienia odpowiedniej żywotności po rozmrożeniu lub CM-1 (numer katalogowy Cytion 800100), która zawiera zoptymalizowane osmoprotektanty i stabilizatory metaboliczne w celu zwiększenia regeneracji i zmniejszenia stresu wywołanego kriokonserwacją.

Thawing and Culturing Cells

1. Upewnij się, że fiolka pozostaje głęboko zamrożona w momencie dostawy, ponieważ komórki są wysyłane w suchym lodzie, aby utrzymać optymalną temperaturę podczas transportu.
2. Po otrzymaniu należy natychmiast przechowywać fiolkę w temperaturze poniżej -150°C , aby zapewnić zachowanie integralności komórek, lub przejść do kroku 3, jeśli wymagana jest natychmiastowa hodowla.
3. W przypadku natychmiastowej hodowli należy szybko rozmrozić fiolkę, zanurzając ją w łaźni wodnej o temperaturze 37°C z czystą wodą i środkiem przeciwdrobnoustrojowym, delikatnie mieszając przez 40-60 sekund, aż pozostanie niewielka grudka lodu.
4. Wykonaj wszystkie kolejne kroki w sterylnych warunkach w kapturze przepływowej, dezynfekując fiolkę 70% etanolem przed otwarciem.
5. Ostrożnie otworzyć zdezynfekowaną fiolkę i przenieść zawiesinę komórek do 15 ml probówki wirówkowej zawierającej 8 ml podłoża hodowlanego o temperaturze pokojowej, delikatnie mieszając.
6. Wirować mieszaninę z prędkością $300 \times g$ przez 3 minuty w celu oddzielenia komórek i ostrożnie odrzucić supernatant zawierający pozostałości pożywki do zamrażania.
7. Delikatnie ponownie zawiesić osad komórek w 10 ml świeżego podłoża hodowlanego. W przypadku komórek przylegających, rozdzielić zawiesinę pomiędzy dwie kolby hodowlane T25; w przypadku hodowli zawiesinowych, przenieść całą pożywkę do jednej kolby T25 w celu promowania skutecznej interakcji i wzrostu komórek.
8. Przestrzegaj ustalonych protokołów podhodowli w celu ciągłego wzrostu i utrzymania linii komórkowej, zapewniając wiarygodne wyniki eksperymentów.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , nawilżona atmosfera.

Flask Coating

Brak

Komórki IEC-18 | 305302

Freezing Procedure

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Shipping Conditions

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Storage Conditions

W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiolki w ciekłym azocie w fazie lotnej w temperaturze od -150 do -196°C . Przechowywanie w temperaturze -80°C jest dopuszczalne tylko jako krótki etap przejściowy przed przeniesieniem do ciekłego azotu.

Kontrola jakości / Profil genetyczny / HLA

Sterility

Zanieczyszczenie mykoplazmą jest wykluczone przy użyciu zarówno testów opartych na PCR, jak i metod wykrywania mykoplazmy opartych na luminescencji.

Aby upewnić się, że nie ma zanieczyszczenia bakteriami, grzybami lub drożdżami, hodowle komórkowe są poddawane codziennym kontrolom wizualnym.