

Células IEC-18 | 305302

Informações gerais

Description

A linha de células IEC-18 é uma linha de células epiteliais não transformadas derivada das células da cripta do intestino delgado do rato. Demonstrou-se que estas células modelam eficazmente as propriedades fisiológicas do epitélio do intestino delgado, particularmente no que diz respeito ao transporte de íões cloreto (Cl⁻). Os canais de cloreto nas células IEC-18 exibem tipos distintos de condutâncias que respondem a vários estímulos, como inchaço celular, aumento do cálcio intracelular (Ca²⁺) e AMP cíclico elevado (cAMP). Por exemplo, as correntes Cl⁻ ativadas por inchaço nas células IEC-18 são caracterizadas por retificação externa e independência de tensão. Além disso, as células IEC-18 expressam canais reguladores da condutância transmembranar da fibrose cística (CFTR), evidenciados pela presença de condutância Cl⁻ ativada por AMPc, que pode ser inibida por glibenclamida e ácido 5-nitro-2-(3-fenilpropilamino) benzoico (NPPB), mas não afetada por DIDS.

As células IEC-18 também foram utilizadas para explorar os mecanismos de sobrevivência celular sob stress induzido pela descolagem, conhecido como anoikis. A investigação indica que a prostaglandina E2 (PGE2) pode promover a viabilidade e a agregação celular em células IEC-18 destacadas através de vias de sinalização mediadas por cAMP. Esta proteção contra o anoikis está associada à ativação da adenilato ciclase e da proteína quinase A (PKA), aumentando a adesão e a viabilidade das células mesmo em estados suspensos. Estes resultados são importantes para compreender os processos relacionados com a inflamação e as potenciais contribuições para a carcinogénese nos tecidos intestinais.

Além disso, as monocamadas IEC-18 têm sido utilizadas para estudar o transporte de várias moléculas através da barreira intestinal. Em comparação com a linha celular Caco-2, as células IEC-18 constituem um modelo mais exato para o transporte passivo transcelular e paracelular devido às suas semelhanças estruturais com as células da cripta do intestino delgado. Ao contrário das células Caco-2, que possuem capacidades de transporte ativo significativas, as células IEC-18 demonstram um transporte mediado por transportador mínimo, o que as torna uma escolha mais adequada para analisar a permeabilidade passiva de macromoléculas hidrofílicas.

Organism Rato

Tissue Intestino delgado, íleo

Disease Normal

Synonyms IEC 18, IEC18, Linha celular epitelioide intestinal n.º 18

Caraterísticas

Breed/Subspecies Charles River Sprague Dawley (CD(SD))

Age 18-24 dias

Gender Não especificado

Morphology De tipo epitelial

Células IEC-18 | 305302**Cell type** Célula epitelial**Growth properties** Aderente**Dados regulamentares****Citation** IEC-18 (número de catálogo Cytion 305302)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 10116**CellosaurusAccession** CVCL_0342**Dados biomoleculares****Manuseamento****Culture Medium** DMEM, com: 4,5 g/L de glucose, com: 4 mM de L-Glutamina, com: 3,7 g/L de NaHCO₃, com: 1,0 mM de piruvato de sódio (número de artigo Cytion 820300a)**Supplements** Completar o meio com 10% de FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Retirar o meio antigo das células aderentes e lavá-las com PBS sem cálcio e magnésio. Nos frascos T25, utilizar 3-5 ml de PBS e, nos frascos T75, 5-10 ml. Em seguida, cobrir completamente as células com Accutase, utilizando 1-2 ml para os frascos T25 e 2,5 ml para os frascos T75. Deixar as células incubar à temperatura ambiente durante 8-10 minutos para as destacar. Após a incubação, misturar suavemente as células com 10 ml de meio para as ressuspender e, em seguida, centrifugar a 300xg durante 3 minutos. Deitar fora o sobrenadante, ressuspender as células em meio fresco e transferi-las para novos frascos que já contenham meio fresco.**Seeding density** 2×10^4 células/cm²**Fluid renewal** 2 vezes por semana

Células IEC-18 | 305302

Freeze medium

Como meio de criopreservação, utilizamos um meio de crescimento completo (incluindo FBS) + 10% DMSO para uma viabilidade pós-descongelamento adequada, ou CM-1 (número de catálogo Cytion 800100), que inclui osmoprotectores otimizados e estabilizadores metabólicos para melhorar a recuperação e reduzir o stress induzido pela crio.

Thawing and Culturing Cells

1. Confirme que o frasco permanece profundamente congelado aquando da entrega, uma vez que as células são enviadas em gelo seco para manter as temperaturas ideais durante o transporte.
2. Após a receção, armazenar o frasco criogénico imediatamente a temperaturas inferiores a -150°C para garantir a preservação da integridade celular, ou avançar para o passo 3 se for necessária uma cultura imediata.
3. Para uma cultura imediata, descongelar rapidamente o frasco imergindo-o num banho de água a 37°C com água limpa e um agente antimicrobiano, agitando suavemente durante 40-60 segundos até ficar um pequeno aglomerado de gelo.
4. Efetuar todos os passos subsequentes em condições estéreis numa capela de fluxo, desinfetando o frasco criogénico com etanol a 70% antes de o abrir.
5. Abrir cuidadosamente o frasco desinfetado e transferir a suspensão de células para um tubo de centrifugação de 15 ml contendo 8 ml de meio de cultura à temperatura ambiente, misturando suavemente.
6. Centrifugar a mistura a 300 x g durante 3 minutos para separar as células e eliminar cuidadosamente o sobrenadante que contém o meio de congelação residual.
7. Ressuspender suavemente o pellet de células em 10 ml de meio de cultura fresco. No caso de células aderentes, dividir a suspensão entre dois frascos de cultura T25; no caso de culturas em suspensão, transferir todo o meio para um frasco T25 para promover uma interação e um crescimento eficazes das células.
8. Cumprir os protocolos de subcultura estabelecidos para o crescimento e manutenção contínuos da linha celular, garantindo resultados experimentais fiáveis.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO_2 , atmosfera humidificada.

Flask Coating

Nenhum

Células IEC-18 | 305302

Freezing Procedure

As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente -78 °C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

Shipping Conditions

As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente -78 °C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

Storage Conditions

Para conservação a longo prazo, colocar os frascos em azoto líquido em fase de vapor a uma temperatura entre -150 e -196 °C. O armazenamento a -80 °C é aceitável apenas como um curto passo intermédio antes da transferência para azoto líquido.

Controlo de qualidade / Perfil genético / HLA

Sterility

A contaminação por micoplasma é excluída utilizando ensaios baseados em PCR e métodos de deteção de micoplasma baseados em luminescência.

Para garantir que não há contaminação bacteriana, fúngica ou de leveduras, as culturas de células são sujeitas a inspeções visuais diárias.