**Product sheet**

# 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 iões 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 ($Ca^{2+}$) 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- activada por AMPc, que pode ser inibida por glibenclamida e ácido 5-nitro-2-(3-fenilpropilamino) benzoico (NPPB), mas não afetada por DIDS.<br><br>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.<br><br>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** | $2 \times 10^4$ células/$cm^2$ |
| **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 optimizados 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, desinfectando o frasco criogénico com etanol a 70% antes de o abrir.
5. Abrir cuidadosamente o frasco desinfectado 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%$_{CO2}$, 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 e Análise Molecular

| | |
|---|---|
| **Sterility** | A contaminação por micoplasma é excluída utilizando ensaios baseados em PCR e métodos de deteção de micoplasma baseados em luminescência.<br><br>Para garantir que não há contaminação bacteriana, fúngica ou de leveduras, as culturas de células são sujeitas a inspecções visuais diárias. |