

Celule IEC-18 | 305302

Informații generale

Description

Linia celulară IEC-18 este o linie celulară epitelială netransformată derivată din celulele criptale ale intestinului subțire de șobolan. S-a demonstrat că aceste celule modelează eficient proprietățile fiziologice ale epiteliului intestinului subțire, în special în ceea ce privește transportul ionilor de clorură (Cl⁻). Canalele de clorură din celulele IEC-18 prezintă tipuri distincte de conductanțe care răspund la diverși stimuli, cum ar fi umflarea celulelor, creșterea calciului intracelular (Ca²⁺) și creșterea AMP ciclic (cAMP). De exemplu, curenții de Cl⁻ activați de umflături în celulele IEC-18 sunt caracterizați prin rectificare spre exterior și independență de tensiune. În plus, celulele IEC-18 exprimă canale CFTR (cystic fibrosis transmembrane conductance regulator), evidențiate prin prezența unei conductii Cl⁻ activate de AMPc, care poate fi inhibată de glibenclamidă și acid 5-nitro-2-(3-fenilpropilamino) benzoic (NPPB), dar nu este afectată de DIDS.

Celulele IEC-18 au fost, de asemenea, utilizate pentru a explora mecanismele de supraviețuire celulară în condiții de stres indus de detașare, cunoscut sub numele de anoikis. Cercetările indică faptul că prostaglandina E2 (PGE2) poate promova viabilitatea și agregarea celulară în celulele IEC-18 detașate prin căi de semnalizare mediate de AMPc. Această protecție împotriva anoikis este asociată cu activarea adenilatciclazei și a protein kinazei A (PKA), sporind aderența și viabilitatea celulară chiar și în stare suspendată. Astfel de constatări sunt semnificative pentru înțelegerea proceselor legate de inflamație și a contribuțiilor potențiale la carcinogeneza în țesuturile intestinale.

În plus, monostraturile IEC-18 au fost utilizate pentru a studia transportul diferitelor molecule prin bariera intestinală. Comparativ cu linia celulară Caco-2, celulele IEC-18 oferă un model mai precis pentru transportul pasiv transcelular și paracelular datorită asemănărilor structurale cu celulele criptogene ale intestinului subțire. Spre deosebire de celulele Caco-2, care posedă capacități semnificative de transport activ, celulele IEC-18 demonstrează un transport minim mediat de purtător, ceea ce le face o alegere mai potrivită pentru analiza permeabilității pasive a macromoleculilor hidrofili.

Organism Șobolan

Tissue Intestin subțire, ileon

Disease Normal

Synonyms IEC 18, IEC18, Linia celulară epitelioidă intestinală nr. 18

Caracteristici

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

Age 18-24 de zile

Gender Nespecificat

Morphology De tip epitelial

Celule IEC-18 | 305302

Cell type Celulă epitelială**Growth properties** Aderent

Date de reglementare

Citation IEC-18 (număr de catalog Cytion 305302)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 10116**CellosaurusAccession** CVCL_0342

Date biomoleculare

Manipulare

Culture Medium DMEM, w: 4,5 g/L glucoză, w: 4 mM L-glutamină, w: 3,7 g/L NaHCO₃, w: 1,0 mM piruvat de sodiu (număr articol Cytion 820300a)**Supplements** Suplimentați mediul cu 10% FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Îndepărtați mediul vechi de pe celulele aderente și spălați-le cu PBS care nu conține calciu și magneziu. Pentru flacoanele T25, se utilizează 3-5 ml de PBS, iar pentru flacoanele T75, 5-10 ml. Apoi, se acoperă celulele complet cu Accutase, folosind 1-2 ml pentru flacoanele T25 și 2,5 ml pentru flacoanele T75. Lăsați celulele la incubare la temperatura camerei timp de 8-10 minute pentru a le detașa. După incubare, amestecați ușor celulele cu 10 ml de mediu pentru a le resuspenda, apoi centrifugați la 300xg timp de 3 minute. Aruncați supernatantul, resuspendați celulele în mediu proaspăt și transferați-le în flacoane noi care conțin deja mediu proaspăt.**Seeding density** 2×10^4 celule/cm²**Fluid renewal** de 2 ori pe săptămână**Freeze medium** Ca mediu de crioconservare, folosim mediu de creștere complet (inclusiv FBS) + 10% DMSO pentru o viabilitate adecvată după dezghețare sau CM-1 (număr de catalog Cytion 800100), care include osmoprotectanți optimizați și stabilizatori metabolici pentru a spori recuperarea și a reduce stresul indus de criogenie.

Celule IEC-18 | 305302

Thawing and Culturing Cells

1. Confirmați că flaconul rămâne profund înghețat la livrare, deoarece celulele sunt expediate pe gheață carbonică pentru a menține temperaturi optime în timpul transportului.
2. La primire, fie depozitați crioviola imediat la temperaturi sub -150 °C pentru a asigura păstrarea integrității celulare, fie treceți la etapa 3 dacă este necesară cultivarea imediată.
3. Pentru cultivarea imediată, dezghețați rapid flaconul prin scufundarea acestuia într-o baie de apă la 37 °C cu apă curată și un agent antimicrobian, agitându-l ușor timp de 40-60 de secunde până când rămâne o mică aglomerare de gheață.
4. Se efectuează toate etapele ulterioare în condiții sterile, într-o hotă cu flux, dezinfectând crioviola cu etanol 70% înainte de deschidere.
5. Se deschide cu grijă flaconul dezinfectat și se transferă suspensia celulară într-un tub de centrifugare de 15 ml care conține 8 ml de mediu de cultură la temperatura camerei, amestecând ușor.
6. Se centrifughează amestecul la 300 x g timp de 3 minute pentru a separa celulele și se aruncă cu grijă supernatantul care conține mediul de congelare rezidual.
7. Se resuspendă ușor peletul celular în 10 ml de mediu de cultură proaspăt. Pentru celulele aderente, împărțiți suspensia între două flacoane de cultură T25; pentru culturile în suspensie, transferați tot mediul într-un flacon T25 pentru a promova interacțiunea și creșterea celulară eficientă.
8. Respectați protocoalele de subcultură stabilite pentru creșterea și menținerea continuă a liniei celulare, asigurând rezultate experimentale fiabile.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO_2 , atmosferă umidificată.

Flask Coating

Niciuna

Freezing Procedure

Liniile celulare crioconservate sunt expediate pe gheață carbonică în ambalaje izolate, validate, cu suficient agent frigorific pentru a menține aproximativ -78 °C pe toată durata transportului. La primire, se inspectează imediat recipientul și se transferă fără întârziere fiolele în depozitul corespunzător.

Shipping Conditions

Liniile celulare crioconservate sunt expediate pe gheață carbonică în ambalaje izolate, validate, cu suficient agent frigorific pentru a menține aproximativ -78 °C pe toată durata transportului. La primire, se inspectează imediat recipientul și se transferă fără întârziere fiolele în depozitul corespunzător.

Celule IEC-18 | 305302

Storage Conditions

Pentru conservarea pe termen lung, flacoanele se plasează în azot lichid în fază de vapori la o temperatură cuprinsă între -150 și -196 °C. Păstrarea la -80 °C este acceptabilă doar ca o scurtă etapă intermediară înainte de transferul în azot lichid.

Controlul calității / Profil genetic / HLA

Sterility

Contaminarea cu micoplasmă este exclusă utilizând atât teste bazate pe PCR, cât și metode de detectare a micoplasmei bazate pe luminescență.

Pentru a se asigura că nu există contaminare bacteriană, fungică sau de drojdie, culturile celulare sunt supuse unor inspecții vizuale zilnice.