

Celice IEC-18 | 305302

Splošne informacije

Description

Celična linija IEC-18 je netransformirana epiteljska celična linija, pridobljena iz kriptnih celic tankega črevesa podgan. Pokazalo se je, da te celice učinkovito modelirajo fiziološke lastnosti epitelija tankega črevesa, zlasti glede prenosa kloridnih ionov (Cl⁻). Kloridni kanali v celicah IEC-18 kažejo različne vrste prevodnosti, ki se odzivajo na različne dražljaje, kot so nabrekanje celic, povečan znotrajcelični kalcij (Ca²⁺) in povišan ciklični AMP (cAMP). Za tokove Cl⁻ v celicah IEC-18, ki se aktivirajo z nabrekanjem, je na primer značilna usmerjenost navzven in napetostna neodvisnost. Poleg tega celice IEC-18 izražajo kanale regulatorja transmembranske prevodnosti cistične fibroze (CFTR), kar dokazuje prisotnost s cAMP aktivirane Cl⁻ prevodnosti, ki jo lahko zavirata glibenklamid in 5-nitro-2-(3-fenilpropilamino) benzojska kislina (NPPB), vendar nanjo ne vpliva DIDS.

Celice IEC-18 so bile uporabljene tudi za raziskovanje mehanizmov preživetja celic v stresu, ki ga povzroča odtrganje, znanem kot anoikis. Raziskave kažejo, da lahko prostaglandin E2 (PGE2) prek signalnih poti, ki jih posreduje cAMP, spodbuja preživetje in združevanje celic v odlepljenih celicah IEC-18. Ta zaščita pred anoikisom je povezana z aktivacijo adenilat ciklaze in proteinske kinaze A (PKA), kar poveča adhezijo in viabilnost celic tudi v suspendiranih stanjih. Takšne ugotovitve so pomembne za razumevanje procesov, povezanih z vnetjem, in morebitnega prispevka h karcinogenezi v črevesnih tkivih.

Poleg tega smo monosloje IEC-18 uporabili za preučevanje prenosa različnih molekul prek črevesne pregrade. V primerjavi s celično linijo Caco-2 so celice IEC-18 zaradi strukturne podobnosti s kriptnimi celicami tankega črevesa natančnejši model za pasivni transcelularni in paracelularni transport. V nasprotju s celicami Caco-2, ki imajo precejšnjo sposobnost aktivnega transporta, celice IEC-18 izkazujejo minimalen transport, posredovan s prenašalci, zato so primernejše za analizo pasivne prepustnosti hidrofilnih makromolekul.

Organism

Podgana

Tissue

Tanko črevo, ileum

Disease

Normalno

Synonyms

IEC 18, IEC18, Črevesna epiteloidna celična linija št. 18

Značilnosti

Breed/Subspecies

Charles River Sprague Dawley (CD(SD))

Age

18-24 dni

Gender

Neopredeljeno

Morphology

Epitelijam podobni

Cell type

Epiteljska celica

Celice IEC-18 | 305302

Growth properties Pripadajoče

Regulativni podatki

Citation IEC-18 (Cytionova kataloška številka 305302)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 10116

CellosaurusAccession CVCL_0342

Biomolekularni podatki**Ravnanje s spletno stranjo**

Culture Medium DMEM, w: 4,5 g/L glukoze, w: 4 mM L-glutamina, w: 3,7 g/L NaHCO₃, w: 1,0 mM natrijevega piruvata (številka izdelka Cytion 820300a)

Supplements Gojišče dopolnite z 10 % FBS

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Odstranite staro gojišče z adherentnih celic in jih sperite s PBS, ki ne vsebuje kalcija in magnezija. Za bučke T25 uporabite 3-5 ml PBS, za bučke T75 pa 5-10 ml. Nato celice popolnoma prekrijte z Accutase, pri čemer uporabite 1-2 ml za bučke T25 in 2,5 ml za bučke T75. Celice pustite inkubirati pri sobni temperaturi 8-10 minut, da se ločijo. Po inkubaciji celice nežno premešajte z 10 ml gojišča, da se ponovno suspendirajo, nato jih 3 minute centrifugirajte pri 300xg. Zavrzite supernatant, ponovno suspendirajte celice v svežem gojišču in jih prenesite v nove bučke, ki že vsebujejo sveže gojišče.

Seeding density 2×10^4 celic/cm²

Fluid renewal 2-krat na teden

Freeze medium Kot gojišče za kriokonzervacijo uporabljamo popolno rastno gojišče (vključno s FBS) + 10 % DMSO za ustrezno vitalnost po odmrznitvi ali CM-1 (kataloška številka 800100 podjetja Cytion), ki vključuje optimizirane osmoprotektante in presnovne stabilizatorje za izboljšanje okrevanja in zmanjšanje stresa, povzročene s kriom.

Celice IEC-18 | 305302

Thawing and Culturing Cells

1. Prepričajte se, da je viala ob dostavi globoko zamrznjena, saj se celice pošiljajo na suhem ledu, da se med prevozom ohranijo optimalne temperature.
2. Po prejemu krioviala takoj shranite pri temperaturi pod $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, da zagotovite ohranitev celične celovitosti, ali pa nadaljujte s korakom 3, če je potrebno takojšnje gojenje.
3. Za takojšnje gojenje vialo hitro odtalite tako, da jo potopite v vodno kopel s čisto vodo in protimikrobnim sredstvom pri $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ ter 40-60 sekund nežno mešate, dokler ne ostane majhen ledeni kepica.
4. Vse nadaljnje korake izvajajte v sterilnih pogojih v pretočni nape, pred odprtjem pa krioviala razkužite s 70 % etanolom.
5. Previdno odprite razkuženo vialo in celično suspenzijo prenesite v 15-mililitrsko centrifugirno epruveto, ki vsebuje 8 ml gojišča sobne temperature, ter nežno premešajte.
6. Mešanico centrifugirajte pri $300 \times g$ 3 minute, da ločite celice, in previdno zavržite supernatant, ki vsebuje ostanke zamrzovalnega gojišča.
7. Pelet celic nežno ponovno suspendirajte v 10 ml svežega gojišča. Pri adherentnih celicah suspenzijo razdelite med dve bučki T25; pri suspenzijskih kulturah prenesite vse gojišče v eno bučko T25, da spodbudite učinkovito interakcijo in rast celic.
8. Upoštevajte uveljavljene protokole subkultur za nadaljnjo rast in vzdrževanje celične linije ter tako zagotovite zanesljive rezultate poskusov.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5 % CO_2 , vlažno ozračje.

Flask Coating

Nič

Freezing Procedure

Kriokonzervirane celične linije se pošiljajo na suhem ledu v potrjeni, izolirani embalaži z zadostno količino hladilnega sredstva, da se med prevozom vzdržuje približno $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Ob prejemu takoj preglejte embalažo in vialo nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.

Shipping Conditions

Kriokonzervirane celične linije se pošiljajo na suhem ledu v potrjeni, izolirani embalaži z zadostno količino hladilnega sredstva, da se med prevozom vzdržuje približno $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Ob prejemu takoj preglejte embalažo in vialo nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.

Celice IEC-18 | 305302

Storage Conditions

Za dolgotrajno shranjevanje vial postavite v tekoči dušik v parni fazi pri približno -150 do -196 °C. Shranjevanje pri -80 °C je sprejemljivo le kot kratek vmesni korak pred prenosom v tekoči dušik.

Nadzor kakovosti / Genetski profil / HLA

Sterility

Kontaminacija z mikoplazmo se izključi z uporabo testov na podlagi PCR in metod za odkrivanje mikoplazme na podlagi luminiscence.

Da se zagotovi, da ni kontaminacije z bakterijami, glivami ali kvasovkami, se celične kulture dnevno vizualno pregledujejo.