Product sheet

Осередки IEC-18 | 305302

Загальна інформація

Description	Клітинна лінія IEC-18 - це нетрансформована епітеліальна клітинна лінія, отримана з криптових клітин тонкої кишки щурів. Доведено, що ці клітини ефективно моделюють фізіологічні властивості епітелію тонкої кишки, зокрема, щодо транспорту хлорид-іонів (Cl-). Хлоридні канали в клітинах IEC-18 демонструють різні типи провідності, які реагують на різні стимули, такі як набухання клітин, збільшення внутрішньоклітинного кальцію (Ca^{2+}) та підвищення рівня циклічного АМФ (цАМФ). Наприклад, активовані набуханням Cl-струми в клітинах IEC-18 характеризуються зовнішнім випрямленням і незалежністю від напруги. Крім того, клітини IEC-18 експресують канали трансмембранного регулятора провідності муковісцидозу (CFTR), про що свідчить наявність активованого цАМФ Cl-струму, який може бути пригнічений глібенкламідом і 5-нітро-2-(3-фенілпропіламіно) бензойною кислотою (NPPB), але на який не впливає DIDS. Клітини IEC-18 також використовували для вивчення механізмів виживання клітин в умовах стресу, спричиненого відшаруванням, відомого як анокіс. Дослідження показують, що простагландин E2 (PGE2) може сприяти життєздатності та агрегації клітин у відокремлених клітинах IEC-18 через цАМФ-опосередковані сигнальні шляхи. Цей захист від аноікісу пов'язаний з активацією аденілатциклази та протеїнкінази A (PKA), що посилює адгезію та життєздатність клітин навіть у підвішеному стані. Такі результати є важливими для розуміння процесів, пов'язаних із запаленням, та потенційного внеску в канцерогенез у тканинах кишечника. Крім того, моношари IEC-18 були використані для вивчення транспорту різних молекул через кишковий бар'єр. Порівняно з клітинною лінією Caco-2, клітини IEC-18 є більш точною моделлю пасивного трансклітинного та парацелюлярного транспорту завдяки своїй структурній подібності до криптових клітин тонкої кишки. На відміну від клітин Caco-2, які володіють значними можливостями активного транспорту, клітини IEC-18 демонструють мінімальний транспорт, опосередкований переносником, що робить їх більш підходящим вибором для аналізу пасивної проникності гідрофільних макромолекул.
Organism	Щур
Tissue	Тонкий кишечник, клубова кишка
Disease	Нормально
Synonyms	IEC 18, IEC18, лінія кишкових епітеліоїдних клітин №18

Характеристики

Breed/Subspecies	Чарльз Рівер Спрег Доулі (CD(SD))
Age	18-24 дні
Gender	Не визначено

Осередки IEC-18 | 305302

Morphology	Епітеліальноподібні
Cell type	Епітеліальна клітина
Growth properties	Адепт

Нормативні дані

Citation	IEC-18 (номер за каталогом Cytion 305302)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	10116
CellosaurusAccession	CVCL_0342

Біомолекулярні дані

Обробка

Culture Medium	ДМЕМ, w: 4,5 г/л Глюкоза, w: 4 мМ L-глутамін, w: 3,7 г/л NaHCO3, w: 1,0 мМ піруват натрію (цит. номер 820300a)
Supplements	Додайте до середовища 10% FBS
Dissociation Reagent	Аккутаза
Subculturing	Видаліть старе середовище з прилиплих клітин і промийте їх PBS, в якому бракує кальцію і магнію. Для колб T25 використовуйте 3-5 мл PBS, а для колб T75 - 5-10 мл. Потім повністю покрийте клітини аккутазою, використовуючи 1-2 мл для колб T25 і 2,5 мл для колб T75. Залиште клітини інкубуватися при кімнатній температурі протягом 8-10 хвилин, щоб відокремити їх. Після інкубації обережно змішайте клітини з 10 мл середовища, щоб ресуспендувати їх, а потім центрифугуйте при 300xg протягом 3 хвилин. Викиньте надосадову рідину, ресуспендуйте клітини у свіжому середовищі та перенесіть їх у нові колби, які вже містять свіже середовище.
Seeding density	2×10^{4} клітини/см2
Fluid renewal	2 рази на тиждень

Осередки IEC-18 | 305302

Freeze medium	Як середовище кріоконсервування ми використовуємо повне живильне середовище (включаючи FBS) + 10% ДМСО для адекватної життєздатності після відтавання або CM-1 (номер за каталогом Cytion 800100), до складу якого входять оптимізовані осмопротектори та метаболічні стабілізатори для прискорення відновлення та зменшення кріоіндукованого стресу.

Thawing and Culturing Cells

1. Переконайтеся, що віал залишається глибоко замороженим після доставки, оскільки клітини транспортуються на сухому льоду для підтримання оптимальної температури під час транспортування.
2. Після отримання негайно зберігайте кріовіал при температурі нижче -150°C, щоб забезпечити збереження клітинної цілісності, або перейдіть до кроку 3, якщо потрібне негайне культивування.
3. Для негайного культивування швидко розморозьте віал, занурivши його у водяну баню з чистою водою і антимікробним засобом при температурі 37°C, обережно перемішуючи протягом 40-60 секунд, поки не залишиться невелика крижана грудка.
4. Всі наступні кроки виконуйте в стерильних умовах у проточній витяжній шафі, дезінфікуючи кріовіал 70% етанолом перед відкриттям.
5. Обережно відкрийте продезінфікований флакон і перенесіть клітинну суспензію в 15 мл центрифужну пробірку, що містить 8 мл культурального середовища кімнатної температури, обережно перемішуючи.
6. Відцентрифугуйте суміш при 300 x g протягом 3 хвилин, щоб відокремити клітини, і обережно викиньте надосадову рідину, що містить залишки заморожувального середовища.
7. Обережно ресуспендуйте осад клітин у 10 мл свіжого культурального середовища. Для адгезивних клітин розділіть суспензію між двома культуральними колбами T25; для суспензійних культур перенесіть все середовище в одну колбу T25, щоб сприяти ефективній взаємодії та росту клітин.
8. Дотримуйтесь встановлених протоколів субкультивування для продовження росту і підтримання клітинної лінії, забезпечуючи надійні результати експерименту.

Incubation Atmosphere	37°C, 5% $_{CO2}$, волога атмосфера.
Flask Coating	Ні

Осередки IEC-18 | 305302

Freezing Procedure	Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевіреній ізольованій упаковці з достатньою кількістю холодоагенту для підтримання температури приблизно -78 °C під час транспортування. При отриманні негайно огляньте контейнер і негайно перемістіть віали у відповідне місце для зберігання.
Shipping Conditions	Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевіреній ізольованій упаковці з достатньою кількістю холодоагенту для підтримання температури приблизно -78 °C під час транспортування. При отриманні негайно огляньте контейнер і без зволікань перемістіть флакони у відповідне місце зберігання.
Storage Conditions	Для тривалого зберігання помістіть флакони в парофазний рідкий азот при температурі від -150 до -196 °C. Зберігання при -80 °C допустиме лише як короткий проміжний етап перед перенесенням у рідкий азот.

Контроль якості та молекулярний аналіз

Sterility	Зараження мікоплазмою виключається за допомогою аналізів на основі ПЛР та люмінесцентних методів виявлення мікоплазми. Щоб переконатися у відсутності бактеріального, грибкового або дріжджового забруднення, клітинні культури піддаються щоденному візуальному контролю.