

Células IEC-18 | 305302**Informações gerais****Description**

A linhagem celular IEC-18 é uma linhagem de células epiteliais não transformadas, derivada das células das criptas do intestino delgado de ratos. Demonstrou-se que essas células reproduzem com eficácia as propriedades fisiológicas do epitélio do intestino delgado, particularmente no que diz respeito ao transporte do íon 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 níveis elevados de AMP cíclico (cAMP). Por exemplo, as correntes de Cl^- ativadas pelo inchaço nas células IEC-18 são caracterizadas por retificação para fora e independência de tensão. Além disso, as células IEC-18 expressam canais do regulador de condutância transmembranar da fibrose cística (CFTR), evidenciados pela presença de condutância de Cl^- ativada por AMP cíclico, que pode ser inibida pela glibenclamida e pelo ácido 5-nitro-2-(3-fenilpropilamino)benzoico (NPPB), mas não é afetada pelo DIDS.

As células IEC-18 também têm sido utilizadas para explorar mecanismos de sobrevivência celular sob estresse induzido pelo desprendimento, conhecido como anoikis. Pesquisas indicam que a prostaglandina E2 (PGE2) pode promover a viabilidade e a agregação celular em células IEC-18 desprendidas por meio de vias de sinalização mediadas pelo AMPc. Essa proteção contra o anoikis está associada à ativação da adenilato ciclase e da proteína quinase A (PKA), aumentando a adesão e a viabilidade celular mesmo em estados de suspensão. Tais descobertas são significativas para a compreensão de processos relacionados à inflamação e possíveis contribuições para a carcinogênese em tecidos intestinais.

Além disso, monocamadas de IEC-18 têm sido empregadas para estudar o transporte de várias moléculas através da barreira intestinal. Em comparação com a linhagem celular Caco-2, as células IEC-18 fornecem um modelo mais preciso para o transporte transcelular e paracelular passivo devido às suas semelhanças estruturais com as células das criptas do intestino delgado. Ao contrário das células Caco-2, que possuem capacidades significativas de transporte ativo, as células IEC-18 demonstram transporte mediado por transportadores mínimo, tornando-as uma opção mais adequada para a análise da permeabilidade passiva de macromoléculas hidrofílicas.

Organism

Rato

Tissue

Intestino delgado, íleo

Disease

Normal

Synonyms

IEC 18, IEC18, Linha celular epitelioide intestinal n° 18

Características**Breed/Subspecies**

Charles River Sprague Dawley (CD(SD))

Age

18 a 24 dias

Gender

Não especificado

Células IEC-18 | 305302**Morphology** De tipo epitelial**Cell type** Célula epitelial**Growth properties** Aderente**Dados regulatórios****Citation** IEC-18 (número de catálogo da Cytion 305302)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 10116**CellosaurusAccession** CVCL_0342**Dados biomoleculares****Manuseio****Culture Medium** DMEM, p/v: 4,5 g/L de glicose, p/v: 4 mM de L-glutamina, p/v: 3,7 g/L de NaHCO₃, p/v: 1,0 mM de piruvato de sódio (número de artigo da Cytion 820300a)**Supplements** Adicione 10% de FBS ao meio**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Remova o meio antigo das células aderentes e lave-as com PBS sem cálcio nem magnésio. Para frascos T25, use 3 a 5 ml de PBS; para frascos T75, use 5 a 10 ml. Em seguida, cubra as células completamente com Accutase, utilizando 1 a 2 ml para frascos T25 e 2,5 ml para frascos T75. Deixe as células incubarem à temperatura ambiente por 8 a 10 minutos para que se desprendam. Após a incubação, misture delicadamente as células com 10 ml de meio para ressuspender, depois centrifugue a 300xg por 3 minutos. Descarte o sobrenadante, ressuspenda as células em meio fresco e transfira-as 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 meio de crescimento completo (incluindo FBS) + 10% de DMSO para garantir viabilidade adequada após o descongelamento, ou CM-1 (número de catálogo da Cytion 800100), que inclui osmoprotetores e estabilizadores metabólicos otimizados para melhorar a recuperação e reduzir o estresse induzido pela criopreservação.

Thawing and Culturing Cells

1. Verifique se o frasco permanece profundamente congelado no momento da entrega, pois as células são enviadas em gelo seco para manter as temperaturas ideais durante o transporte.
2. Após o recebimento, armazene o criovial imediatamente a temperaturas abaixo de -150 °C para garantir a preservação da integridade celular ou prossiga para a etapa 3, caso seja necessária a cultura imediata.
3. Para cultura imediata, descongele rapidamente o frasco imergindo-o em um banho-maria a 37 °C com água limpa e um agente antimicrobiano, agitando suavemente por 40 a 60 segundos até que reste apenas um pequeno pedaço de gelo.
4. Realize todas as etapas subsequentes em condições estéreis em uma cabine de fluxo, desinfetando o criovial com etanol a 70% antes de abri-lo.
5. Abra cuidadosamente o frasco desinfetado e transfira a suspensão celular para um tubo de centrífuga de 15 ml contendo 8 ml de meio de cultura à temperatura ambiente, misturando delicadamente.
6. Centrifugue a mistura a 300 x g por 3 minutos para separar as células e descarte cuidadosamente o sobrenadante contendo o meio de congelamento residual.
7. Ressuspender suavemente o sedimento celular em 10 ml de meio de cultura fresco. Para células aderentes, dividir a suspensão entre dois frascos de cultura T25; para culturas em suspensão, transferir todo o meio para um frasco T25 a fim de promover a interação e o crescimento celular eficazes.
8. Siga os protocolos de subcultura estabelecidos para o crescimento contínuo e a manutenção da linhagem celular, garantindo resultados experimentais confiáveis.

Incubation Atmosphere

37 °C, 5% de CO₂, atmosfera umidificada.

Shipping Conditions

As linhagens celulares criopreservadas são enviadas em gelo seco, em embalagens isoladas e validadas, com refrigerante suficiente para manter a temperatura em aproximadamente -78 °C durante todo o transporte. Ao receber a remessa, inspecione o recipiente imediatamente e transfira os frascos sem demora para o local de armazenamento adequado.

Células IEC-18 | 305302

Storage Conditions

Para preservação a longo prazo, coloque os frascos em nitrogênio líquido em fase de vapor a uma temperatura entre aproximadamente -150 e -196 °C. O armazenamento a -80 °C é aceitável apenas como uma etapa intermediária de curta duração antes da transferência para o nitrogênio líquido.

Controle de Qualidade e Análise Molecular

Sterility

A contaminação por micoplasma é descartada por meio de ensaios baseados em PCR e de métodos de detecção de micoplasma baseados em luminescência.

Para garantir que não haja contaminação por bactérias, fungos ou leveduras, as culturas celulares são submetidas a inspeções visuais diárias.