Product sheet

IEC-18-celler | 305302

Generel information

Description	IEC-18-cellelinjen er en ikke-transformeret epitelcellelinje, der stammer fra kryptcellerne i rotternes tyndtarm. Det har vist sig, at disse celler effektivt modellerer tyndtarmsepitelets fysiologiske egenskaber, især med hensyn til transport af kloridioner (Cl-). Kloridkanaler i IEC-18-celler udviser forskellige typer af konduktanser, der reagerer på forskellige stimuli såsom cellehævelse, øget intracellulært calcium (Ca^{2+}) og forhøjet cyklisk AMP (cAMP). For eksempel er hævelse-aktiverede Cl-strømme i IEC-18-celler karakteriseret ved udadgående ensretning og spændingsuafhængighed. Desuden udtrykker IEC-18-celler CFTR-kanaler (cystic fibrosis transmembrane conductance regulator), hvilket fremgår af tilstedeværelsen af cAMP-aktiveret Cl-konduktans, som kan hæmmes af glibenclamid og 5-nitro-2-(3-phenylpropylamino)benzoesyre (NPPB), men ikke påvirkes af DIDS. IEC-18-celler er også blevet brugt til at udforske celleoverlevelsesmekanismer under løsrivelsesinduceret stress, kendt som anoikis. Forskning viser, at prostaglandin E2 (PGE2) kan fremme cellelevedygtighed og aggregering i løsrevne IEC-18-celler gennem cAMP-medierede signalveje. Denne beskyttelse mod anoikis er forbundet med aktivering af adenylatcyklase og proteinkinase A (PKA), hvilket forbedrer celleadhæsion og levedygtighed, selv i suspenderede tilstande. Sådanne fund er vigtige for at forstå inflammationsrelaterede processer og potentielle bidrag til karcinogenese i tarmvæv. Desuden er IEC-18-monolag blevet brugt til at studere transporten af forskellige molekyler over tarmbarrieren. Sammenlignet med Caco-2-cellelinjen giver IEC-18-celler en mere nøjagtig model for passiv transcellulær og paracellulær transport på grund af deres strukturelle ligheder med tyndtarmens kryptceller. I modsætning til Caco-2-celler, som har betydelige aktive transportfunktioner, udviser IEC-18-celler minimal bærermedieret transport, hvilket gør dem til et mere egnet valg til analyse af den passive permeabilitet af hydrofile makromolekyler.
Organism	Rotte
Tissue	Tyndtarm, ileum
Disease	Normal
Synonyms	IEC 18, IEC18, Intestinal Epithelioid Cell line No. 18

Karakteristika

Breed/Subspecies	Charles River Sprague Dawley (CD(SD))
Age	18-24 dage
Gender	Uspecificeret
Morphology	Epitel-lignende

Product sheet

IEC-18-celler | 305302

Cell type	Epitelcelle
Growth properties	Vedhæftende

Regulatoriske data

Citation	IEC-18 (Cytion katalognummer 305302)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	10116
CellosaurusAccession	CVCL_0342

Biomolekylære data

Håndtering

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/L glukose, w: 4 mM L-glutamin, w: 3,7 g/L NaHCO3, w: 1,0 mM natriumpyruvat (Cytion artikelnummer 820300a)
Supplements	Suppler mediet med 10% FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Fjern det gamle medium fra de klæbende celler, og vask dem med PBS, der ikke indeholder calcium og magnesium. Brug 3-5 ml PBS til T25-kolber og 5-10 ml til T75-kolber. Dæk derefter cellerne helt med Accutase, brug 1-2 ml til T25-kolber og 2,5 ml til T75-kolber. Lad cellerne inkubere ved stuetemperatur i 8-10 minutter for at løsne dem. Efter inkubationen blandes cellerne forsigtigt med 10 ml medium for at resuspendere dem, og centrifugeres derefter ved 300xg i 3 minutter. Kassér supernatanten, resuspender cellerne i frisk medium, og overfør dem til nye kolber, der allerede indeholder frisk medium.
Seeding density	2 x 10^4 celler/cm^2
Fluid renewal	2 gange om ugen

IEC-18-celler | 305302

Freeze medium	Som kryopræserveringsmedium bruger vi komplet vækstmedium (inklusive FBS) + 10 % DMSO for tilstrækkelig levedygtighed efter optøning eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som indeholder optimerede osmobeskyttende stoffer og metaboliske stabilisatorer for at forbedre genopretningen og reducere kryo-induceret stress.

Thawing and Culturing Cells

1. Bekræft, at hætteglasset forbliver dybfrosset ved levering, da cellerne sendes på tøris for at opretholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved modtagelsen skal du enten straks opbevare kryohætteglasset ved temperaturer under -150 °C for at sikre, at cellernes integritet bevares, eller gå videre til trin 3, hvis øjeblikkelig dyrkning er påkrævet.
3. Ved øjeblikkelig dyrkning optøs hætteglasset hurtigt ved at nedsænke det i et 37 °C varmt vandbad med rent vand og et antimikrobielt middel og røre forsigtigt i 40-60 sekunder, indtil der kun er en lille isklump tilbage.
4. Udfør alle efterfølgende trin under sterile forhold i en flowhætte, og desinficer kryovialet med 70 % ethanol, før det åbnes.
5. Åbn forsigtigt det desinficerede hætteglas, og overfør cellesuspensionen til et 15 ml centrifugerør, der indeholder 8 ml kulturmedium ved stuetemperatur, og bland forsigtigt.
6. Centrifuger blandingen ved 300 x g i 3 minutter for at adskille cellerne, og kassér omhyggeligt supernatanten, der indeholder resterende frysemedium.
7. Resuspender forsigtigt cellepelleten i 10 ml frisk dyrkningsmedium. For klæbende celler deles suspensionen mellem to T25-kulturkolber; for suspensionskulturer overføres alt mediet til en T25-kolbe for at fremme effektiv celleinteraktion og -vækst.
8. Overhold etablerede subkulturprotokoller for fortsat vækst og vedligeholdelse af cellelinjen, hvilket sikrer pålidelige eksperimentelle resultater.

Incubation Atmosphere	37°C, 5%$_{CO2}$, befugtet atmosfære.
Flask Coating	Ingen
Freezing Procedure	Kryopræserverede cellelinjer sendes på tøris i valideret, isoleret emballage med tilstrækkeligt kølemiddel til at opretholde ca. -78 °C under hele transporten. Ved modtagelse skal beholderen straks inspiceres, og hætteglassene skal straks overføres til passende opbevaring.

Shipping Conditions	Kryopræserverede cellelinjer sendes på tøris i valideret, isoleret emballage med tilstrækkeligt kølemiddel til at opretholde ca. -78 °C under hele transporten. Ved modtagelse skal beholderen straks inspiceres, og hætteglassene skal straks overføres til passende opbevaring.
Storage Conditions	For langtidsopbevaring anbringes hætteglas i flydende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Opbevaring ved -80 °C er kun acceptabelt som et kort mellemtrin før overførsel til flydende nitrogen.

Kvalitetskontrol og molekylær analyse

Sterility	Mycoplasma-kontaminering udelukkes ved hjælp af både PCR-baserede assays og luminescensbaserede mycoplasma-detektionsmetoder. For at sikre, at der ikke er nogen bakterie-, svampe- eller gærforurening, underkastes cellekulturerne daglige visuelle inspektioner.