

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 tyndtarmsepitellets 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 (Ca²⁺) 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

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, resuspend cellerne i frisk medium, og overfør dem til nye kolber, der allerede indeholder frisk medium.**Seeding density** 2×10^4 celler/cm²**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 osmobyttende stoffer og metaboliske stabilisatorer for at forbedre genopretningen og reducere kryoinduceret 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 $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ 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 $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ 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 $300 \times g$ 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

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , befugtet atmosfære.

Flask Coating

Ingen

Freezing Procedure

Kryopræservede cellelinjer sendes på tøris i valideret, isoleret emballage med tilstrækkeligt kølemiddel til at opretholde ca. $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hele transporten. Ved modtagelse skal beholderen straks inspiceres, og hætteglassene skal straks overføres til passende opbevaring.

IEC-18-celler | 305302

Shipping Conditions

Kryopræservede 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 / Genetisk profil / HLA

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.