Product sheet

IEC-18-Zellen | 305302

Allgemeine Informationen

Description	Die IEC-18-Zelllinie ist eine nicht transformierte Epithelzelllinie, die aus den Kryptenzellen des Ratten-Dünndarms stammt. Es hat sich gezeigt, dass diese Zellen die physiologischen Eigenschaften des Dünndarmepithels effektiv nachbilden, insbesondere im Hinblick auf den Chloridionentransport (Cl-). Chloridkanäle in IEC-18-Zellen weisen unterschiedliche Arten von Leitfähigkeiten auf, die auf verschiedene Stimuli wie Zellschwellung, erhöhtes intrazelluläres Kalzium (Ca^{2+}) und erhöhtes zyklisches AMP (cAMP) reagieren. So sind beispielsweise die durch Schwellung aktivierten Cl-Ströme in IEC-18-Zellen durch Gleichrichtung nach außen und Spannungsunabhängigkeit gekennzeichnet. Darüber hinaus exprimieren IEC-18-Zellen CFTR-Kanäle (Cystic Fibrosis Transmembrane Conductance Regulator), was durch das Vorhandensein von cAMP-aktivierten Cl-Strömen belegt wird, die durch Glibenclamid und 5-Nitro-2-(3-Phenylpropylamino)-benzoesäure (NPPB) gehemmt werden können, aber nicht durch DIDS beeinflusst werden. IEC-18-Zellen wurden auch zur Erforschung von Zellüberlebensmechanismen unter Ablösungsstress, dem so genannten Anoikis, verwendet. Forschungsergebnisse deuten darauf hin, dass Prostaglandin E2 (PGE2) die Zelllebensfähigkeit und -aggregation in abgelösten IEC-18-Zellen durch cAMP-vermittelte Signalwege fördern kann. Dieser Schutz vor Anoikis ist mit der Aktivierung der Adenylatzyklase und der Proteinkinase A (PKA) verbunden, wodurch die Zelladhäsion und Lebensfähigkeit auch im suspendierten Zustand verbessert werden. Diese Ergebnisse sind wichtig für das Verständnis entzündungsbedingter Prozesse und möglicher Beiträge zur Krebsentstehung in Darmgeweben. Darüber hinaus wurden IEC-18-Monolayer eingesetzt, um den Transport verschiedener Moleküle durch die Darmbarriere zu untersuchen. Im Vergleich zur Caco-2-Zelllinie bieten IEC-18-Zellen aufgrund ihrer strukturellen Ähnlichkeit mit den Kryptenzellen des Dünndarms ein genaueres Modell für den passiven transzellulären und parazellulären Transport. Im Gegensatz zu Caco-2-Zellen, die über erhebliche aktive Transportfähigkeiten verfügen, zeigen IEC-18-Zellen nur einen minimalen Carrier-vermittelten Transport, wodurch sie sich besser für die Analyse der passiven Permeabilität hydrophiler Makromoleküle eignen.
Organism	Ratte
Tissue	Dünndarm, Ileum
Disease	Normal
Synonyms	IEC 18, IEC18, Intestinale epithelioide Zelllinie Nr. 18

Merkmale

Breed/Subspecies	Charles River Sprague Dawley (CD(SD))
Age	18-24 Tage
Gender	Nicht spezifiziert

IEC-18-Zellen | 305302

Morphology	Epithelähnlich
Cell type	Epithelzelle
Growth properties	Adhärent

Regulatorische Daten

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

Biomolekulare Daten

Handhabung

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/L Glucose, w: 4 mM L-Glutamin, w: 3,7 g/L NaHCO3, w: 1,0 mM Natriumpyruvat (Cytion-Artikelnummer 820300a)
Supplements	Ergänzen Sie das Medium mit 10% FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Entfernen Sie das alte Medium von den adhärenten Zellen und waschen Sie sie mit PBS, das kein Kalzium und Magnesium enthält. Für T25-Kolben 3-5 ml PBS und für T75-Kolben 5-10 ml verwenden. Anschließend werden die Zellen vollständig mit Accutase bedeckt, wobei 1-2 ml für T25-Kolben und 2,5 ml für T75-Kolben verwendet werden. Lassen Sie die Zellen 8-10 Minuten bei Raumtemperatur inkubieren, um sie abzulösen. Nach der Inkubation mischen Sie die Zellen vorsichtig mit 10 ml Medium, um sie zu resuspendieren, und zentrifugieren sie dann 3 Minuten lang bei 300xg. Den Überstand verwerfen, die Zellen in frischem Medium resuspendieren und in neue Kolben überführen, die bereits frisches Medium enthalten.
Split ratio	Empfohlen wird ein Verhältnis von 1:3 bis 1:6
Seeding density	2 x 10^4 Zellen/cm²

IEC-18-Zellen | 305302

Fluid renewal	2 Mal pro Woche
Freeze medium	Als Kryokonservierungsmedium verwenden wir komplettes Wachstumsmedium (einschließlich FBS) + 10 % DMSO für eine angemessene Lebensfähigkeit nach dem Auftauen oder CM-1 (Cytion Katalognummer 800100), das optimierte Osmoprotektoren und Stoffwechselstabilisatoren enthält, um die Erholung zu verbessern und kryoinduzierten Stress zu reduzieren.
Thawing and Culturing Cells	1. Vergewissern Sie sich, dass das Fläschchen bei der Lieferung tiefgefroren ist, da die Zellen auf Trockeneis versandt werden, um während des Transports optimale Temperaturen zu erhalten. 2. Lagern Sie das Kryofläschchen nach Erhalt entweder sofort bei Temperaturen unter -150 °C, um die Unversehrtheit der Zellen zu gewährleisten, oder fahren Sie mit Schritt 3 fort, wenn eine sofortige Kultivierung erforderlich ist. 3. Für eine sofortige Kultivierung tauen Sie das Fläschchen schnell auf, indem Sie es in ein 37°C warmes Wasserbad mit sauberem Wasser und einem antimikrobiellen Mittel eintauchen und 40-60 Sekunden lang vorsichtig schütteln, bis ein kleiner Eisklumpen zurückbleibt. 4. Führen Sie alle weiteren Schritte unter sterilen Bedingungen in einer Abzugshaube durch und desinfizieren Sie das Kryo-Fläschchen vor dem Öffnen mit 70%igem Ethanol. 5. Das desinfizierte Fläschchen vorsichtig öffnen und die Zellsuspension unter vorsichtigem Mischen in ein 15-ml-Zentrifugenröhrchen mit 8 ml Kulturmedium bei Raumtemperatur überführen. 6. Zentrifugieren Sie das Gemisch 3 Minuten lang bei 300 x g, um die Zellen abzutrennen, und verwerfen Sie den Überstand mit dem restlichen Gefriermedium vorsichtig. 7. Das Zellpellet vorsichtig in 10 ml frischem Kulturmedium resuspendieren. Bei adhärenten Zellen die Suspension auf zwei T25-Kulturflaschen aufteilen; bei Suspensionskulturen das gesamte Medium in eine T25-Flasche überführen, um eine effektive Zellinteraktion und ein effektives Wachstum zu fördern. 8. Halten Sie sich an die festgelegten Subkulturprotokolle, um ein kontinuierliches Wachstum und die Aufrechterhaltung der Zelllinie zu gewährleisten und zuverlässige Versuchsergebnisse zu erzielen.
Incubation Atmosphere	37°C, 5% $_{CO2}$, befeuchtete Atmosphäre.
Flask Coating	Keine

Freezing Procedure	Kryokonservierte Zelllinien werden auf Trockeneis in einer validierten, isolierten Verpackung mit ausreichend Kühlmittel versandt, um während des gesamten Transports eine Temperatur von etwa -78 °C aufrechtzuerhalten. Prüfen Sie den Behälter bei Erhalt sofort und bringen Sie die Fläschchen unverzüglich in ein geeignetes Lager.
Shipping Conditions	Kryokonservierte Zelllinien werden auf Trockeneis in einer validierten, isolierten Verpackung mit ausreichend Kühlmittel versandt, um während des gesamten Transports eine Temperatur von etwa -78 °C aufrechtzuerhalten. Prüfen Sie den Behälter bei Erhalt sofort und bringen Sie die Fläschchen unverzüglich in ein geeignetes Lager.
Storage Conditions	Zur Langzeitkonservierung werden die Fläschchen in flüssigem Stickstoff bei etwa -150 bis -196 °C gelagert. Eine Lagerung bei -80 °C ist nur als kurzer Zwischenschritt vor der Überführung in flüssigen Stickstoff akzeptabel.

Qualitätskontrolle und molekulare Analyse

Sterility	Eine Kontamination mit Mykoplasmen wird sowohl durch PCR-basierte Assays als auch durch lumineszenzbasierte Mykoplasmen-Nachweisverfahren ausgeschlossen. Um sicherzustellen, dass keine Kontamination mit Bakterien, Pilzen oder Hefen vorliegt, werden die Zellkulturen täglich visuell überprüft.