Product sheet

IEC-18 Cellen | 305302

Algemene informatie

Description	De IEC-18 cellijn is een niet-getransformeerde epitheelcellijn afkomstig van de cryptecellen van de dunne darm van ratten. Van deze cellen is aangetoond dat ze de fysiologische eigenschappen van het dunne darmepitheel effectief modelleren, met name met betrekking tot het transport van chloride-ionen (Cl-). Chloride kanalen in IEC-18 cellen vertonen verschillende typen geleiders die reageren op verschillende stimuli zoals celzwelling, verhoogd intracellulair calcium (Ca^{2+}) en verhoogd cyclisch AMP (cAMP). Zo worden de door zwelling geactiveerde Cl-stromen in IEC-18 cellen gekenmerkt door uitwaartse gelijkrichting en spanningsonafhankelijkheid. Bovendien brengen IEC-18 cellen cystic fibrosis transmembrane conductance regulator (CFTR)-kanalen tot expressie, wat blijkt uit de aanwezigheid van cAMP-geactiveerde Cl-stromen die kunnen worden geremd door glibenclamide en 5-nitro-2-(3-fenylpropylamino)-benzoëzuur (NPPB), maar niet door DIDS. IEC-18 cellen zijn ook gebruikt om overlevingsmechanismen van cellen te onderzoeken onder door ontkoppeling veroorzaakte stress, bekend als anoikis. Onderzoek toont aan dat prostaglandine E2 (PGE2) de levensvatbaarheid en aggregatie van cellen in onthechte IEC-18 cellen kan bevorderen via cAMP-gemedieerde signaalwegen. Deze bescherming tegen anoikis wordt in verband gebracht met de activering van adenylaatcyclase en proteïne kinase A (PKA), waardoor de celadhesie en levensvatbaarheid worden verbeterd, zelfs in zwevende toestand. Dergelijke bevindingen zijn belangrijk voor het begrijpen van ontstekingsgerelateerde processen en mogelijke bijdragen aan carcinogenese in darmweefsel. Bovendien zijn IEC-18 monolagen gebruikt om het transport van verschillende moleculen door de darmbarrière te bestuderen. Vergeleken met de Caco-2 cellijn bieden IEC-18 cellen een nauwkeuriger model voor passief transcellulair en paracellulair transport vanwege hun structurele overeenkomsten met cryptecellen in de dunne darm. In tegenstelling tot Caco-2 cellen, die aanzienlijke actieve transportcapaciteiten bezitten, vertonen IEC-18 cellen minimaal transport door dragers, waardoor ze een geschiktere keuze zijn voor het analyseren van de passieve permeabiliteit van hydrofiele macromoleculen.
Organism	Rat
Tissue	Dunne darm, ileum
Disease	Normaal
Synonyms	IEC 18, IEC18, intestinale epithelioïde cellijn nr. 18

Kenmerken

Breed/Subspecies	Charles River Sprague Dawley (CD(SD))
Age	18-24 dagen
Gender	Ongespecificeerd

IEC-18 Cellen | 305302

Morphology	Epitheelachtig
Cell type	Epitheelcel
Growth properties	Aanhangend

Regelgevende gegevens

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

Biomoleculaire gegevens

Omgaan met

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/L Glucose, w: 4 mM L-Glutamine, w: 3,7 g/L NaHCO3, w: 1,0 mM Natriumpyruvaat (Cytion artikelnummer 820300a)
Supplements	Vul het medium aan met 10% FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Verwijder het oude medium van de adherente cellen en was ze met PBS zonder calcium en magnesium. Gebruik voor T25-flesjes 3-5 ml PBS en voor T75-flesjes 5-10 ml. Bedek de cellen vervolgens volledig met Accutase, met 1-2 ml voor T25-flesjes en 2,5 ml voor T75-flesjes. Laat de cellen gedurende 8-10 minuten bij kamertemperatuur incuberen om ze los te maken. Na incubatie de cellen voorzichtig mengen met 10 ml medium om ze te resuspenderen en vervolgens centrifugeren bij 300xg gedurende 3 minuten. Gooi het supernatant weg, resuspendeer de cellen in vers medium en breng ze over in nieuwe kolven die al vers medium bevatten.
Split ratio	Een verhouding van 1:3 tot 1:6 wordt aanbevolen
Seeding density	2×10^4 cellen/cm^2
Fluid renewal	2 keer per week

IEC-18 Cellen | 305302

Freeze medium	Als cryoconserveringsmedium gebruiken we volledig groeimedium (inclusief FBS) + 10% DMSO voor voldoende levensvatbaarheid na het ontdooien, of CM-1 (Cytion catalogusnummer 800100), dat geoptimaliseerde osmoprotectanten en metabolische stabilisatoren bevat om het herstel te verbeteren en door cryo geïnduceerde stress te verminderen.
Thawing and Culturing Cells	1. Controleer of de flacon bij levering diepgevroren blijft, aangezien de cellen op droog ijs worden verzonden om optimale temperaturen tijdens het transport te behouden. 2. Bewaar het cryoflesje na ontvangst onmiddellijk bij temperaturen lager dan -150 °C om de integriteit van de cellen te behouden, of ga verder met stap 3 als onmiddellijke kweek vereist is. 3. Voor onmiddellijke kweek: ontdooi de flacon snel door deze onder te dompelen in een waterbad van 37 °C met schoon water en een antimicrobieel middel, waarbij u 40-60 seconden zachtjes schudt totdat er een klein ijsklontje overblijft. 4. Voer alle volgende stappen uit onder steriele omstandigheden in een stromingskap en desinfecteer de cryoflacon met 70% ethanol voordat deze wordt geopend. 5. Open voorzichtig de gedesinfecteerde flacon en breng de celsuspensie over in een centrifugebuis van 15 ml met 8 ml kweekmedium op kamertemperatuur en meng voorzichtig. 6. Centrifugeer het mengsel gedurende 3 minuten bij 300 x g om de cellen te scheiden en gooi het supernatant met resterend vriesmedium voorzichtig weg. 7. Resuspendeer de celpellet voorzichtig in 10 ml vers kweekmedium. Verdeel voor adherente cellen de suspensie over twee T25-kweekkolven; breng voor suspensiekweken al het medium over in één T25-kweekkolf om effectieve celinteractie en -groei te bevorderen. 8. Houd u aan de vastgestelde subcultuurprotocollen voor continue groei en onderhoud van de cellijn, om betrouwbare experimentele resultaten te garanderen.
Incubation Atmosphere	37°C, 5%$_{CO2}$, bevochtigde atmosfeer.
Flask Coating	Geen
Freezing Procedure	Gecryopreserveerde cellijnen worden verzonden op droog ijs in gevalideerde, geïsoleerde verpakkingen met voldoende koelmiddel om gedurende het transport ongeveer -78 °C te handhaven. Inspecteer de verpakking onmiddellijk na ontvangst en breng de flacons onverwijld over naar de juiste opslagplaats.

IEC-18 Cellen | 305302

Shipping Conditions	Gecryopreserveerde cellijnen worden verzonden op droog ijs in gevalideerde, geïsoleerde verpakkingen met voldoende koelmiddel om gedurende het transport ongeveer -78 °C te handhaven. Inspecteer de verpakking onmiddellijk na ontvangst en breng de flacons onverwijld over naar de juiste opslagplaats.
Storage Conditions	Voor langdurige bewaring plaatst u flesjes in vloeibare stikstof in dampfase bij ongeveer -150 tot -196 °C. Opslag bij -80 °C is alleen aanvaardbaar als korte tussenstap vóór overbrenging naar vloeibare stikstof.

Kwaliteitscontrole en moleculaire analyse

Sterility	Mycoplasmaverontreiniging wordt uitgesloten met zowel PCR-gebaseerde testen als op luminescentie gebaseerde mycoplasmadetectiemethoden. Om er zeker van te zijn dat er geen besmetting is met bacteriën, schimmels of gisten, worden de celculturen dagelijks onderworpen aan visuele inspecties.