

IEC-18-celler | 305302

Generell informasjon

Description

IEC-18-cellelinjen er en ikke-transformert epitelcellelinje som er avledet fra kryptcellene i tynntarmen hos rotter. Disse cellene har vist seg å være en effektiv modell for de fysiologiske egenskapene til tynntarmsepitelet, særlig med hensyn til transport av kloridioner (Cl⁻). Kloridkanalene i IEC-18-celler har forskjellige typer konduktanser som reagerer på ulike stimuli, som cellehevelse, økt intracellulært kalsium (Ca²⁺) og forhøyet syklisk AMP (cAMP). For eksempel er hevelsesaktiverte Cl-strømmer i IEC-18-celler kjennetegnet av utadrettet likeretting og spenningsuavhengighet. IEC-18-celler uttrykker dessuten CFTR-kanaler (cystic fibrosis transmembrane conductance regulator), noe som fremgår av tilstedeværelsen av cAMP-aktivert Cl-ledningsevne som kan hemmes av glibenklamid og 5-nitro-2-(3-fenylpropylamino)benzoyl-DL-homoserin (NPPB), men som ikke påvirkes av DIDS.

IEC-18-celler har også blitt brukt til å utforske celleoverlevelsesmekanismer under stress forårsaket av avløsning, kjent som anoikis. Forskning tyder på at prostaglandin E2 (PGE2) kan fremme cellelevedyktighet og aggregering i løsrevne IEC-18-celler gjennom cAMP-medierte signalveier. Denne beskyttelsen mot anoikis er forbundet med aktivering av adenylatsyklase og proteinkinase A (PKA), noe som forbedrer celleadhesjon og levedyktighet selv i suspendert tilstand. Slike funn er viktige for å forstå betennelsesrelaterte prosesser og potensielle bidrag til karsinogenese i tarmvev.

IEC-18-cellelag har dessuten blitt brukt til å studere transport av ulike molekyler over tarmbarrieren. Sammenlignet med Caco-2-cellelinjen er IEC-18-celler en mer nøyaktig modell for passiv transcellulær og paracellulær transport på grunn av deres strukturelle likheter med tynntarmens kryptceller. I motsetning til Caco-2-celler, som har betydelige aktive transportegenskaper, viser IEC-18-celler minimal bærermediert transport, noe som gjør dem til et mer egnet valg for å analysere den passive permeabiliteten til hydrofile makromolekyler.

Organism Rotte

Tissue Tynntarm, ileum

Disease Normal

Synonyms IEC 18, IEC18, Intestinal Epithelioid Cell line No. 18

Kjennetegn

Breed/Subspecies Charles River Sprague Dawley (CD(SD))

Age 18-24 dager

Gender Uspesifisert

Morphology Epitel-lignende

Cell type Epitelcelle

IEC-18-celler | 305302

Growth properties Vedhengende

Regulatoriske data

Citation IEC-18 (Cytion-katalognummer 305302)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 10116

CellosaurusAccession CVCL_0342

Biomolekylære data

Håndtering

Culture Medium DMEM, m: 4,5 g/L glukose, m: 4 mM L-glutamin, m: 3,7 g/L NaHCO₃, m: 1,0 mM natriumpyruvat (Cytion artikkelnummer 820300a)

Supplements Suppler mediet med 10 % FBS

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Fjern det gamle mediet fra de adherente cellene, og vask dem med PBS uten kalsium og magnesium. Bruk 3-5 ml PBS for T25-kolber og 5-10 ml for T75-kolber. Dekk deretter cellene helt med Accutase, med 1-2 ml for T25-kolber og 2,5 ml for T75-kolber. La cellene inkubere i romtemperatur i 8-10 minutter for å løsne dem. Etter inkubasjon blandes cellene forsiktig med 10 ml medium for å resuspendere dem, og sentrifuger deretter ved 300xg i 3 minutter. Kast supernatanten, resuspendere cellene i nytt medium, og overfør dem til nye kolber som allerede inneholder nytt medium.

Split ratio Et forhold på 1:3 til 1:6 anbefales

Seeding density 2×10^4 celler/cm²

Fluid renewal 2 ganger per uke

Freeze medium Som kryopreserveringsmedium bruker vi komplett vekstmedium (inkludert FBS) + 10 % DMSO for tilstrekkelig levedyktighet etter optiming, eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som inneholder optimaliserte osmobeskyttende midler og metabolske stabilisatorer for å øke utvinningen og redusere kryoinduisert stress.

IEC-18-celler | 305302

Thawing and Culturing Cells

1. Kontroller at hetteglasset er dypfrost ved levering, ettersom cellene sendes på tørris for å opprettholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved mottak skal hetteglasset enten oppbevares umiddelbart ved temperaturer under $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ for å sikre at cellenes integritet bevares, eller gå videre til trinn 3 hvis umiddelbar dyrking er nødvendig.
3. Ved umiddelbar dyrking tiner du hetteglasset raskt ved å senke det ned i et $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ varmt vannbad med rent vann og et antimikrobielt middel, og røre forsiktig i 40-60 sekunder til det blir en liten isklump igjen.
4. Utfør alle påfølgende trinn under sterile forhold i en strømningshette, og desinfiser kryoflasken med 70 % etanol før du åpner den.
5. Åpne det desinfiserte hetteglasset forsiktig, og overfør cellesuspensjonen til et 15 ml sentrifugerør som inneholder 8 ml romtemperert dyrkningsmedium, og bland forsiktig.
6. Sentrifuger blandingen ved $300 \times g$ i 3 minutter for å separere cellene, og kast supernatanten som inneholder rester av frysemedium, forsiktig.
7. Resuspender cellepelletten forsiktig i 10 ml nytt dyrkningsmedium. For adherente celler, del suspensjonen mellom to T25-kulturkolber; for suspensjonskulturer, overfør alt mediet til én T25-kolbe for å fremme effektiv celleinteraksjon og vekst.
8. Følg etablerte subkulturprotokoller for fortsatt vekst og vedlikehold av cellelinjen, noe som sikrer pålitelige eksperimentelle resultater.

Incubation Atmosphere

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

Flask Coating

Ingen

Freezing Procedure

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca. $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

Shipping Conditions

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca. $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

IEC-18-celler | 305302

Storage Conditions

For langtidsoppbevaring plasseres hetteglassene i flytende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Lagring ved -80 °C er kun akseptabelt som et kort mellomtrinn før overføring til flytende nitrogen.

Kvalitetskontroll / Genetisk profil / HLA

Sterility

Mykoplasma-kontaminering utelukkes ved hjelp av både PCR-baserte analyser og luminescensbaserte metoder for påvisning av mykoplasma.

For å sikre at det ikke finnes bakterie-, sopp- eller gjærkontaminering, blir cellekulturene inspisert visuelt hver dag.