**Product sheet**

# 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 ($Ca^{2+}$) 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)benzosyre (NPPB), men som ikke påvirkes av DIDS.<br><br>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.<br><br>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, resuspender 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 x $10^4$ celler/$cm^2$ |
| **Fluid renewal** | 2 ganger per uke |
| **Freeze medium** | Som kryopreserveringsmedium bruker vi komplett vekstmedium (inkludert FBS) + 10 % DMSO for tilstrekkelig levedyktighet etter opptining, eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som inneholder optimaliserte osmobeskyttende midler og metabolske stabilisatorer for å øke utvinningen og redusere kryoindusert stress. |

# IEC-18-celler | 305302

| | |
|---|---|
| **Thawing and Culturing Cells** | 1. Kontroller at hetteglasset er dypfryst ved levering, ettersom cellene sendes på tørris for å opprettholde optimale temperaturer under transport.<br>2. Ved mottak skal hetteglasset enten oppbevares umiddelbart ved temperaturer under -150 °C for å sikre at cellenes integritet bevares, eller gå videre til trinn 3 hvis umiddelbar dyrking er nødvendig.<br>3. Ved umiddelbar dyrking tiner du hetteglasset raskt ved å senke det ned i et 37 °C varmt vannbad med rent vann og et antimikrobielt middel, og røre forsiktig i 40-60 sekunder til det blir en liten isklump igjen.<br>4. Utfør alle påfølgende trinn under sterile forhold i en strømningshette, og desinfiser kryoflasken med 70 % etanol før du åpner den.<br>5. Åpne det desinfiserte hetteglasset forsiktig, og overfør cellesuspensjonen til et 15 ml sentrifugerør som inneholder 8 ml romtemperert dyrkingsmedium, og bland forsiktig.<br>6. Sentrifuger blandingen ved 300 x g i 3 minutter for å separere cellene, og kast supernatanten som inneholder rester av frysemedium, forsiktig.<br>7. Resuspender cellepelleten 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.<br>8. Følg etablerte subkulturprotokoller for fortsatt vekst og vedlikehold av cellelinjen, noe som sikrer pålitelige eksperimentelle resultater. |
| **Incubation Atmosphere** | 37 °C, 5 % $_{CO2}$, 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 °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 °C under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass. |

| | |
|---|---|
| **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 og molekylær analyse

| | |
|---|---|
| **Sterility** | Mykoplasma-kontaminering utelukkes ved hjelp av både PCR-baserte analyser og luminescensbaserte metoder for påvisning av mykoplasma.<br><br>For å sikre at det ikke finnes bakterie-, sopp- eller gjærkontaminering, blir cellekulturene inspisert visuelt hver dag. |