Product sheet

IEC-18-celler | 305302

Allmän information

Description	IEC-18-cellinjen är en icke-transformerad epitelcellinje som härrör från kryptcellerna i tunntarmen hos råtta. Dessa celler har visat sig effektivt modellera de fysiologiska egenskaperna hos tunntarmsepitelet, särskilt med avseende på transport av kloridjoner (Cl-). Kloridkanaler i IEC-18-celler uppvisar distinkta typer av konduktanser som svarar på olika stimuli som cellsvullnad, ökat intracellulärt kalcium (Ca^{2+}) och förhöjt cykliskt AMP (cAMP). Till exempel kännetecknas svällningsaktiverade Cl-strömmar i IEC-18-celler av utåtgående likriktning och spänningsoberoende. IEC-18-celler uttrycker dessutom CFTR-kanaler (cystic fibrosis transmembrane conductance regulator), vilket framgår av förekomsten av cAMP-aktiverad Cl-ledningsförmåga som kan hämmas av glibenklamid och 5-nitro-2-(3-fenylpropylamino)bensoesyra (NPPB), men inte påverkas av DIDS. IEC-18-celler har också använts för att utforska cellöverlevnadsmekanismer under stress orsakad av avlägsnande, så kallad anoikis. Forskning tyder på att prostaglandin E2 (PGE2) kan främja cellviabilitet och aggregering i avskilda IEC-18-celler genom cAMP-medierade signalvägar. Detta skydd mot anoikis är förknippat med aktivering av adenylatcyklas och proteinkinas A (PKA), vilket förbättrar celladhesion och livskraft även i suspenderade tillstånd. Sådana fynd är viktiga för att förstå inflammationsrelaterade processer och potentiella bidrag till carcinogenes i tarmvävnader. Dessutom har IEC-18-monolager använts för att studera transporten av olika molekyler över tarmbarriären. Jämfört med Caco-2-cellinjen ger IEC-18-celler en mer exakt modell för passiv transcellulär och paracellulär transport på grund av deras strukturella likheter med tunntarmens kryptceller. Till skillnad från Caco-2-celler, som har betydande aktiva transportfunktioner, uppvisar IEC-18-celler minimal bärarmedierad transport, vilket gör dem till ett lämpligare val för att analysera den passiva permeabiliteten hos hydrofila makromolekyler.
Organism	Råtta
Tissue	Tunntarmen, ileum
Disease	Normal
Synonyms	IEC 18, IEC18, Intestinal Epithelioid Cell line No. 18

Egenskaper

Breed/Subspecies	Charles River Sprague Dawley (CD(SD))
Age	18-24 dagar
Gender	Ospecificerad
Morphology	Epitelliknande
Cell type	Epitelial cell

Product sheet

IEC-18-celler | 305302

Growth properties	Följsam

Lagstadgade uppgifter

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

Biomolekylära data

Hantering

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/L glukos, w: 4 mM L-glutamin, w: 3,7 g/L NaHCO3, w: 1,0 mM natriumpyruvat (Cytion artikelnummer 820300a)
Supplements	Komplettera mediet med 10% FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Ta bort det gamla mediet från de adherenta cellerna och tvätta dem med PBS som saknar kalcium och magnesium. Använd 3-5 ml PBS för T25-kolvar och 5-10 ml för T75-kolvar. Täck sedan cellerna helt med Accutase, använd 1-2 ml för T25-kolvar och 2,5 ml för T75-kolvar. Låt cellerna inkubera i rumstemperatur i 8-10 minuter så att de lossnar. Efter inkubationen, blanda cellerna försiktigt med 10 ml medium för att resuspendera dem och centrifugera sedan vid 300xg i 3 minuter. Kassera supernatanten, resuspendera cellerna i färskt medium och överför dem till nya kolvar som redan innehåller färskt medium.
Split ratio	Ett förhållande på 1:3 till 1:6 rekommenderas
Seeding density	2×10^4 celler/cm^2
Fluid renewal	2 gånger per vecka

IEC-18-celler | 305302

Freeze medium	Som kryokonserveringsmedium använder vi komplett tillväxtmedium (inklusive FBS) + 10% DMSO för adekvat viabilitet efter upptining, eller CM-1 (Cytion katalognummer 800100), som innehåller optimerade osmoprotektanter och metaboliska stabilisatorer för att förbättra återhämtningen och minska kryoinducerad stress.
Thawing and Culturing Cells	1. Bekräfta att flaskan är djupfryst vid leverans, eftersom cellerna skickas på torris för att bibehålla optimala temperaturer under transporten. 2. Vid mottagandet ska du antingen förvara kryovialen omedelbart vid temperaturer under -150 °C för att säkerställa att cellernas integritet bevaras, eller gå vidare till steg 3 om omedelbar odling krävs. 3. Vid omedelbar odling ska injektionsflaskan snabbt tinas genom att den sänks ned i ett 37 °C vattenbad med rent vatten och ett antimikrobiellt medel och omrörs försiktigt i 40-60 sekunder tills en liten isklump återstår. 4. Utför alla efterföljande steg under sterila förhållanden i en flödeshuv och desinficera kryovialerna med 70 % etanol innan de öppnas. 5. Öppna försiktigt den desinficerade flaskan och överför cellsuspensionen till ett 15 ml centrifugrör som innehåller 8 ml rumstempererat odlingsmedium och blanda försiktigt. 6. Centrifugera blandningen vid 300 x g i 3 minuter för att separera cellerna och kassera försiktigt supernatanten som innehåller resterande frysmedium. 7. Resuspendera försiktigt cellpelleten i 10 ml färskt odlingsmedium. För adherenta celler, fördela suspensionen mellan två T25-kulturkolvar; för suspensionskulturer, överför allt medium till en T25-kolv för att främja effektiv cellinteraktion och tillväxt. 8. Följ fastställda subkulturprotokoll för fortsatt tillväxt och underhåll av cellinjen, vilket säkerställer tillförlitliga experimentella resultat.
Incubation Atmosphere	37°C, 5%$_{CO2}$, befuktad atmosfär.
Flask Coating	Ingen
Freezing Procedure	Kryopreserverade cellinjer skickas på torris i validerade, isolerade förpackningar med tillräckligt med kylmedel för att hålla cirka -78 °C under hela transporten. Vid mottagandet ska behållaren omedelbart inspekteras och flaskorna utan dröjsmål överföras till lämplig förvaring.

IEC-18-celler | 305302

Shipping Conditions	Kryopreserverade cellinjer skickas på torris i validerade, isolerade förpackningar med tillräckligt med kylmedel för att hålla cirka -78 °C under hela transporten. Vid mottagandet ska behållaren omedelbart inspekteras och flaskorna utan dröjsmål överföras till lämplig förvaring.
Storage Conditions	För långtidsförvaring, placera flaskorna i flytande kväve i ångfas vid ca -150 till -196 °C. Förvaring vid -80 °C är acceptabelt endast som ett kort mellanliggande steg innan överföring till flytande kväve.

Kvalitetskontroll och molekylär analys

Sterility	Mykoplasmakontaminering utesluts med hjälp av både PCR-baserade analyser och luminiscensbaserade metoder för mykoplasmadiagnostik. För att säkerställa att det inte finns någon kontaminering av bakterier, svamp eller jäst utsätts cellkulturerna för dagliga visuella inspektioner.