Product sheet

Cellules IEC-18 | 305302

Informations générales

Description	La lignée cellulaire IEC-18 est une lignée de cellules épithéliales non transformées dérivées des cellules de la crypte de l'intestin grêle du rat. Il a été démontré que ces cellules modélisent efficacement les propriétés physiologiques de l'épithélium de l'intestin grêle, en particulier en ce qui concerne le transport des ions chlorure (Cl-). Les canaux chlorure des cellules IEC-18 présentent des types distincts de conductances qui répondent à divers stimuli tels que le gonflement des cellules, l'augmentation du calcium intracellulaire (Ca^{2+}) et l'élévation de l'AMP cyclique (AMPc). Par exemple, les courants Cl- activés par le gonflement dans les cellules IEC-18 sont caractérisés par une rectification vers l'extérieur et une indépendance vis-à-vis du voltage. En outre, les cellules IEC-18 expriment des canaux CFTR (cystic fibrosis transmembrane conductance regulator), comme en témoigne la présence d'une conductance Cl- activée par l'AMPc, qui peut être inhibée par le glibenclamide et l'acide 5-nitro-2-(3-phenylpropylamino) benzoïque (NPPB), mais qui n'est pas affectée par le DIDS. Les cellules IEC-18 ont également été utilisées pour explorer les mécanismes de survie cellulaire en cas de stress induit par le détachement, connu sous le nom d'anoikis. La recherche indique que la prostaglandine E2 (PGE2) peut promouvoir la viabilité et l'agrégation des cellules IEC-18 détachées par le biais de voies de signalisation médiées par l'AMPc. Cette protection contre l'anoikis est associée à l'activation de l'adénylate cyclase et de la protéine kinase A (PKA), ce qui renforce l'adhésion et la viabilité des cellules, même à l'état suspendu. Ces résultats sont importants pour comprendre les processus liés à l'inflammation et les contributions potentielles à la carcinogenèse dans les tissus intestinaux. En outre, les monocouches IEC-18 ont été utilisées pour étudier le transport de diverses molécules à travers la barrière intestinale. Par rapport à la lignée cellulaire Caco-2, les cellules IEC-18 constituent un modèle plus précis pour le transport passif transcellulaire et paracellulaire en raison de leurs similitudes structurelles avec les cellules de la crypte de l'intestin grêle. Contrairement aux cellules Caco-2, qui possèdent d'importantes capacités de transport actif, les cellules IEC-18 présentent un transport à médiation minimale, ce qui en fait un choix plus approprié pour l'analyse de la perméabilité passive des macromolécules hydrophiles.
Organism	Rat
Tissue	Intestin grêle, iléon
Disease	Normal
Synonyms	IEC 18, IEC18, lignée cellulaire épithélioïde intestinale n° 18

Caractéristiques

Breed/Subspecies	Charles River Sprague Dawley (CD(SD))
Age	18-24 jours
Gender	Non spécifié

Product sheet

Cellules IEC-18 | 305302

Morphology	De type épithélial
Cell type	Cellule épithéliale
Growth properties	Adhérent

Données réglementaires

Citation	IEC-18 (numéro de catalogue Cytion 305302)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	10116
CellosaurusAccession	CVCL_0342

Données biomoléculaires

Manipulation

Culture Medium	DMEM, w : 4.5 g/L Glucose, w : 4 mM L-Glutamine, w : 3.7 g/L NaHCO3, w : 1.0 mM Pyruvate de sodium (numéro d'article Cytion 820300a)
Supplements	Compléter le milieu avec 10% de FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Retirer l'ancien milieu des cellules adhérentes et les laver avec du PBS dépourvu de calcium et de magnésium. Pour les flacons T25, utiliser 3-5 ml de PBS, et pour les flacons T75, 5-10 ml. Ensuite, recouvrir complètement les cellules avec Accutase, en utilisant 1 à 2 ml pour les flacons T25 et 2,5 ml pour les flacons T75. Laisser les cellules incuber à température ambiante pendant 8-10 minutes pour les détacher. Après incubation, mélanger délicatement les cellules avec 10 ml de milieu pour les remettre en suspension, puis centrifuger à 300xg pendant 3 minutes. Jeter le surnageant, remettre les cellules en suspension dans du milieu frais et les transférer dans de nouveaux flacons contenant déjà du milieu frais.
Split ratio	Un rapport de 1:3 à 1:6 est recommandé
Seeding density	2 x 10^4 cellules/cm^2

Cellules IEC-18 | 305302

Fluid renewal	2 fois par semaine
Freeze medium	Comme milieu de cryoconservation, nous utilisons un milieu de croissance complet (comprenant du FBS) + 10 % de DMSO pour une viabilité adéquate après décongélation, ou CM-1 (numéro de catalogue 800100 de Cytion), qui comprend des osmoprotectants et des stabilisateurs métaboliques optimisés pour améliorer la récupération et réduire le stress induit par la cryogénisation.
Thawing and Culturing Cells	1. Confirmer que le flacon est toujours congelé à la livraison, car les cellules sont expédiées sur de la glace sèche pour maintenir des températures optimales pendant le transport. 2. Dès réception, soit conserver immédiatement le cryovial à des températures inférieures à -150°C pour assurer la préservation de l'intégrité cellulaire, soit passer à l'étape 3 si une mise en culture immédiate est nécessaire. 3. Pour une mise en culture immédiate, décongeler rapidement le flacon en l'immergeant dans un bain-marie à 37°C avec de l'eau propre et un agent antimicrobien, en l'agitant doucement pendant 40 à 60 secondes jusqu'à ce qu'il ne reste qu'un petit amas de glace. 4. Effectuer toutes les étapes suivantes dans des conditions stériles sous une hotte à flux, en désinfectant le cryovial avec de l'éthanol à 70 % avant de l'ouvrir. 5. Ouvrir soigneusement le flacon désinfecté et transférer la suspension cellulaire dans un tube à centrifuger de 15 ml contenant 8 ml de milieu de culture à température ambiante, en mélangeant doucement. 6. Centrifuger le mélange à 300 x g pendant 3 minutes pour séparer les cellules et jeter soigneusement le surnageant contenant le milieu de congélation résiduel. 7. Remettre doucement en suspension le culot cellulaire dans 10 ml de milieu de culture frais. Pour les cellules adhérentes, répartir la suspension entre deux flacons de culture T25 ; pour les cultures en suspension, transférer tout le milieu dans un seul flacon T25 afin de favoriser une interaction et une croissance efficaces des cellules. 8. Respecter les protocoles de sous-culture établis pour une croissance et un entretien continus de la lignée cellulaire, garantissant ainsi des résultats expérimentaux fiables.
Incubation Atmosphere	37°C, 5%$_{CO2}$, atmosphère humidifiée.
Flask Coating	Aucun

Freezing Procedure	Les lignées cellulaires cryoconservées sont expédiées sur glace sèche dans des emballages isolés et validés, avec suffisamment de réfrigérant pour maintenir une température d'environ -78 °C tout au long du transport. À la réception, inspecter immédiatement le conteneur et transférer sans délai les flacons dans un lieu de stockage approprié.
Shipping Conditions	Les lignées cellulaires cryoconservées sont expédiées sur glace sèche dans des emballages isolés et validés, avec suffisamment de réfrigérant pour maintenir une température d'environ -78 °C tout au long du transport. À la réception, inspecter immédiatement le conteneur et transférer sans délai les flacons dans un lieu de stockage approprié.
Storage Conditions	Pour une conservation à long terme, placer les flacons dans de l'azote liquide en phase vapeur à une température comprise entre -150 et -196 °C environ. Le stockage à -80 °C n'est acceptable qu'en tant qu'étape intermédiaire de courte durée avant le transfert dans l'azote liquide.

Contrôle qualité et analyse moléculaire

Sterility	La contamination par les mycoplasmes est exclue à l'aide de tests basés sur la PCR et de méthodes de détection des mycoplasmes basées sur la luminescence. Pour s'assurer de l'absence de contamination bactérienne, fongique ou levurienne, les cultures cellulaires font l'objet d'inspections visuelles quotidiennes.