Product sheet

Cellules IEC-18 | 305302

Renseignements généraux

Description	La lignée cellulaire IEC-18 est une lignée de cellules épithéliales non transformées dérivée des cellules des cryptes de l'intestin grêle du rat. Il a été démontré que ces cellules reproduisent efficacement les propriétés physiologiques de l'épithélium de l'intestin grêle, notamment en ce qui concerne le transport des ions chlorure (Cl^-). Les canaux chlorure des cellules IEC-18 présentent différents types de conductances qui réagissent à divers stimuli, tels que le gonflement cellulaire, l'augmentation du calcium intracellulaire (Ca^{2+}) et l'élévation de l'AMP cyclique (AMPc). Par exemple, les courants de Cl^- activés par le gonflement dans les cellules IEC-18 se caractérisent par une rectification vers l'extérieur et une indépendance vis-à-vis de la tension. De plus, les cellules IEC-18 expriment des canaux du régulateur de conductance transmembranaire de la fibrose kystique (CFTR), comme en témoigne la présence d'une conductance de Cl^- activée par l'AMP cyclique, qui peut être inhibée par la glibenclamide et l'acide 5-nitro-2-(3-phénylpropylamino)benzoïque (NPPB), mais qui n'est pas affectée par le DIDS. Les cellules IEC-18 ont également été utilisées pour étudier les mécanismes de survie cellulaire sous l'effet d'un stress induit par le détachement, connu sous le nom d'anoïkise. Les recherches indiquent que la prostaglandine E2 (PGE2) peut favoriser 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'anoïkis est associée à l'activation de l'adénylate cyclase et de la protéine kinase A (PKA), ce qui renforce l'adhésion et la viabilité cellulaires, même à l'état en suspension. Ces résultats sont importants pour comprendre les processus liés à l'inflammation et leur contribution potentielle à la carcinogenèse dans les tissus intestinaux. De plus, des monocouches d'IEC-18 ont été utilisées pour étudier le transport de diverses molécules à travers la barrière intestinale. Comparativement à la lignée cellulaire Caco-2, les cellules IEC-18 constituent un modèle plus précis pour le transport transcellulaire et paracellulaire passif en raison de leurs similitudes structurelles avec les cellules des cryptes de l'intestin grêle. Contrairement aux cellules Caco-2, qui possèdent d'importantes capacités de transport actif, les cellules IEC-18 ne présentent qu'un transport minimal médié par des transporteurs, ce qui en fait un choix plus approprié pour analyser 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 à 24 jours
Gender	Non précisé

Cellules IEC-18 | 305302

Morphology	De type épithélial
Cell type	Cellule épithéliale
Growth properties	Adepte

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, p/v : 4,5 g/L de glucose, p/v : 4 mM de L-glutamine, p/v : 3,7 g/L de $NaHCO_3$, p/v : 1,0 mM de pyruvate de sodium (référence Cytion 820300a)
Supplements	Ajouter 10 % de FBS au milieu de culture
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Retirez l'ancien milieu des cellules adhérentes et lavez-les avec du PBS sans calcium ni magnésium. Pour les flacons T25, utilisez 3 à 5 ml de PBS, et pour les flacons T75, utilisez 5 à 10 ml. Ensuite, recouvrez complètement les cellules d'Accutase, en utilisant 1 à 2 ml pour les flacons T25 et 2,5 ml pour les flacons T75. Laissez les cellules incuber à température ambiante pendant 8 à 10 minutes afin de les détacher. Après l'incubation, mélangez délicatement les cellules avec 10 ml de milieu pour les remettre en suspension, puis centrifugez à 300 x g pendant 3 minutes. Éliminez le surnageant, remettez les cellules en suspension dans du milieu frais, puis transférez-les dans de nouveaux flacons contenant déjà du milieu frais.
Seeding density	2×10^4 cellules/cm^2
Fluid renewal	2 fois par semaine

Cellules IEC-18 | 305302

Freeze medium	Comme milieu de cryoconservation, nous utilisons un milieu de croissance complet (contenant du sérum fœtal bovin) + 10 % de DMSO pour assurer une viabilité adéquate après décongélation, ou du CM-1 (référence Cytion 800100), qui contient des osmoprotecteurs et des stabilisateurs métaboliques optimisés pour améliorer la récupération et réduire le stress induit par la cryoconservation.

Thawing and Culturing Cells

1. Assurez-vous que le flacon reste bien congelé à la livraison, car les cellules sont expédiées sur de la glace sèche afin de maintenir des températures optimales pendant le transport.
2. À la réception, conservez immédiatement le cryofiole à une température inférieure à -150 °C pour garantir la préservation de l'intégrité cellulaire, ou passez à l'étape 3 si une culture immédiate est nécessaire.
3. Pour une culture immédiate, décongelez rapidement le flacon en l'immergeant dans un bain-marie à 37 °C contenant de l'eau propre et un agent antimicrobien, en agitant doucement pendant 40 à 60 secondes jusqu'à ce qu'il ne reste qu'un petit morceau de glace.
4. Effectuez toutes les étapes suivantes dans des conditions stériles sous une hotte à flux laminaire, en désinfectant le cryotube avec de l'éthanol à 70 % avant de l'ouvrir.
5. Ouvrez avec précaution le flacon désinfecté et transférez la suspension cellulaire dans un tube à centrifuger de 15 ml contenant 8 ml de milieu de culture à température ambiante, en mélangeant délicatement.
6. Centrifuger le mélange à 300 x g pendant 3 minutes pour séparer les cellules, puis jeter avec précaution le surnageant contenant le milieu de congélation résiduel.
7. Remettre délicatement le culot cellulaire en suspension dans 10 ml de milieu de culture frais. Pour les cellules adhérentes, répartir la suspension dans deux flacons de culture T25; pour les cultures en suspension, transférer la totalité du milieu dans un seul flacon T25 afin de favoriser une interaction et une croissance cellulaires efficaces.
8. Respectez les protocoles de sous-culture établis pour assurer la croissance continue et le maintien de la lignée cellulaire, garantissant ainsi des résultats expérimentaux fiables.

Incubation Atmosphere	37 °C, 5 % de CO_2, atmosphère humidifiée.
Shipping Conditions	Les lignées cellulaires cryoconservées sont expédiées dans de la glace sèche, dans un emballage isotherme validé contenant suffisamment de réfrigérant pour maintenir une température d'environ −78 °C pendant tout le transport. À la réception, inspectez immédiatement le conteneur et transférez sans délai les flacons dans un lieu de stockage approprié.

Storage Conditions	Pour une conservation à long terme, placez les flacons dans de l’azote liquide en phase vapeur à une température comprise entre environ −150 et −196 °C. L’entreposage à −80 °C n’est acceptable qu’à titre d’étape intermédiaire de courte durée avant le transfert dans l’azote liquide.

Contrôle de la 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 par luminescence. Afin de s’assurer qu’il n’y a aucune contamination bactérienne, fongique ou par des levures, les cultures cellulaires font l’objet d’inspections visuelles quotidiennes.