

Клетки IPEC-J2 | 305571

Обща информация

Description

Клетъчната линия IPEC-J2 е нетрансформирана, постоянна епителна клетъчна линия, получена от епитела на йеюна на новородено, некърмено прасенце. Клетките IPEC-J2 запазват структурните и функционалните характеристики на зрелите ентероцити, което ги прави отличен модел за изучаване на чревната физиология и патология. Тези клетки образуват поляризиран монослой с плътни съединения и проявяват високо трансепителиално електрическо съпротивление (TEER), което е от съществено значение за изследване на функциите и пропускливостта на епителната бариера. Поради свинския си произход клетките IPEC-J2 имитират по-точно човешката чревна физиология в сравнение с линии, произлизащи от гризачи, като IEC-6 и IEC-18, което повишава тяхната значимост в зоонозните и сравнителните изследвания.

От функционална гледна точка клетките IPEC-J2 експресират ключови маркери и цитокини, свързани с имунните реакции, като TNF- α и GM-CSF, и притежават набор от toll-подобни рецептори (TLR), които улесняват изследванията на взаимодействията между патогени и гостоприемник. Това ги прави безценни за микробиологичните изследвания, особено при проучването на взаимодействията с патогени като **Salmonella enterica** и патогенната **Escherichia coli**. Те са били използвани и за оценка на ефектите на пробиотиците и хранителните добавки върху здравето на червата, като приложенията включват оценка на противовъзпалителните и цитопротективните реакции.

Изследванията с IPEC-J2 са проучили техните реакции към оксидативния стрес и защитните им механизми. Например, е доказано, че екзогенният глутатион (GSH) предпазва клетките IPEC-J2 от оксидативно увреждане чрез подобряване на митохондриалната функция, подобряване на митохондриалния мембранен потенциал и намаляване на натрупването на реактивни кислородни видове (ROS). Тези резултати подчертават полезността на IPEC-J2 при изучаването на епителни реакции към стрес и потенциални терапевтични интервенции за поддържане на целостта на чревната бариера.

Organism

Свиня

Tissue

Тънко черво, йеюnum

Disease

Нормален

Synonyms

IPECJ2, линия от епителни клетки на свински черва – J2

Характеристики

Age

Новородено

Gender

Неуточнено

Morphology

Подобни на епител

Cell type

Ентероцит

Клетки IPEC-J2 | 305571

Growth properties

Придържачи се

Регулаторни данни

Citation

IPEC-J2 (каталожен номер на Cytion 305571)

Biosafety level

1

NCBI_TaxID

9823

CellosaurusAccession

CVCL_2246

Биомолекулярни данни

Работа с

Culture Medium

DMEM, w: 4,5 g/L глюкоза, w: 4 mM L-глутамин, w: 3,7 g/L NaHCO₃, w: 1,0 mM натриев пируват (номер на изделието на Cytion 820300a)

Supplements

Допълнете средата с 10% FBS

Dissociation Reagent

Accutase

Subculturing

Отстранете старата среда от адхезивните клетки и ги промийте с PBS, която не съдържа калций и магнезий. За колби T25 използвайте 3-5 ml PBS, а за колби T75 - 5-10 ml. След това покрийте клетките изцяло с TrypLE Express, като използвате 1-2 ml за колби T25 и 2,5 ml за колби T75. Оставете клетките да се инкубират на стайна температура за 8-10 минути, за да се отделят. След инкубацията внимателно разбъркайте клетките с 10 ml среда, за да ги ресуспендирате, след което центрофугирайте при 300xg за 3 минути. Изхвърлете супернатантата, ресуспендирайте клетките в прясна среда и ги прехвърлете в нови колби, които вече съдържат прясна среда.

Seeding density

 $1-3 \times 10^4 / \text{cm}^2$

Fluid renewal

1 до 2 пъти седмично

Freeze medium

Като среда за криоконсервация използваме пълна среда за растеж (включително FBS) + 10% DMSO за адекватна жизнеспособност след размразяване или CM-1 (каталожен номер 800100 на Cytion), която включва оптимизирани осмопротектори и метаболитни стабилизатори за подобряване на възстановяването и намаляване на криоиндуцирания стрес.

Клетки IPEC-J2 | 305571**Thawing and
Culturing Cells**

1. Уверете се, че флаконът остава дълбоко замразен при доставката, тъй като клетките се транспортират със сух лед, за да се поддържат оптимални температури по време на транспортирането.
2. При получаване съхранявайте незабавно криовиолата при температури под -150°C , за да осигурите запазване на клетъчната цялост, или преминете към стъпка 3, ако е необходимо незабавно култивиране.
3. За незабавно култивиране бързо размразете флакона, като го потопите във водна баня с чиста вода и антимикробен агент с температура 37°C , като разбърквате внимателно в продължение на 40-60 секунди, докато остане малка ледена бучка.
4. Извършвайте всички следващи стъпки при стерилни условия в аспиратор, като преди отваряне дезинфекцирате криовиолата със 70% етанол.
5. Внимателно отворете дезинфекцирания флакон и прехвърлете клетъчната суспензия в 15 ml центрофужна епруветка, съдържаща 8 ml хранителна среда със стайна температура, като разбърквате внимателно.
6. Центрофугирайте сместа при $300 \times g$ в продължение на 3 минути, за да отделите клетките, и внимателно изхвърлете супернатантата, съдържаща остатъчна замразяваща среда.
7. Внимателно ресуспендирайте клетъчната пелета в 10 ml прясна хранителна среда. За адхезивни клетки разделете суспензията между две колби T25; за суспензионни култури прехвърлете цялата среда в една колба T25, за да стимулирате ефективното взаимодействие и растеж на клетките.
8. Придържайте се към установените протоколи за субкултивиране за непрекъснат растеж и поддържане на клетъчната линия, като гарантирате надеждни експериментални резултати.

**Incubation
Atmosphere**

37°C , 5% CO_2 , овлажнена атмосфера.

**Shipping
Conditions**

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед в утвърдени, изолирани опаковки с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително -78°C по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

Клетки ИРЕС-J2 | 305571

Storage Conditions

За дълготрайно съхранение поставете флаконите в течен азот в парна фаза при температура около -150 до -196 °C. Съхранението при -80 °C е приемливо само като кратък междинен етап преди прехвърлянето в течен азот.

Контрол на качеството и молекулярен анализ

Sterility

Замърсяването с микоплазма се изключва както чрез PCR-базирани анализи, така и чрез луминесцентни методи за откриване на микоплазма.

За да се гарантира, че няма бактериално, гъбично или дрождево замърсяване, клетъчните култури се подлагат на ежедневни визуални проверки.