

Buňky IPEC-J2 | 305571

Obecné informace

Description

Buněčná linie IPEC-J2 je netransformovaná, permanentní epiteliální buněčná linie odvozená z epitelu jejunu novorozeného, nekojeného selátka. Buňky IPEC-J2 si zachovávají strukturální a funkční vlastnosti zralých enterocytů, což z nich činí vynikající model pro studium fyziologie a patologie střeva. Tyto buňky tvoří polarizovanou monovrstvu s těsnými spoji a vykazují vysoký transepiteliální elektrický odpor (TEER), který je nezbytný pro zkoumání funkcí a permeability epiteliální bariéry. Díky svému prasečímu původu napodobují buňky IPEC-J2 fyziologii lidského střeva věrněji než linie odvozené od hlodavců, jako jsou IEC-6 a IEC-18, což zvyšuje jejich význam ve zoonotickém a komparativním výzkumu.

Z funkčního hlediska buňky IPEC-J2 exprimují klíčové markery a cytokiny spojené s imunitními reakcemi, jako jsou TNF- α a GM-CSF, a disponují řadou toll-like receptorů (TLR), které usnadňují studium interakcí mezi patogeny a hostitelem. Díky tomu jsou neocenitelné pro mikrobiologický výzkum, zejména při zkoumání interakcí s patogeny, jako je *Salmonella enterica* a patogenní *Escherichia coli*. Byly také využity k hodnocení účinků probiotik a doplňků stravy na zdraví střev, přičemž mezi aplikace patří i posuzování protizánětlivých a cytoprotektivních reakcí.

Výzkum s využitím buněk IPEC-J2 se zabýval jejich reakcemi na oxidační stres a jejich ochrannými mechanismy. Například bylo prokázáno, že exogenní glutathion (GSH) chrání buňky IPEC-J2 před oxidačním poškozením tím, že posiluje funkci mitochondrií, zlepšuje potenciál mitochondriální membrány a snižuje hromadění reaktivních forem kyslíku (ROS). Tyto poznatky potvrzují užitečnost buněk IPEC-J2 při studiu epiteliálních reakcí na stres a potenciálních terapeutických zásahů pro zachování integrity střevní bariéry.

Organism

Prase

Tissue

Tenké střevo, jejunum

Disease

Normální

Synonyms

IPECJ2, linie střevních epiteliálních buněk prasete – J2

Charakteristika

Age

Novorozenci

Gender

Nespecifikováno

Morphology

Epitelu podobné

Cell type

Enterocyt

Growth properties

Adherentní

Buňky IPEC-J2 | 305571

Regulační údaje

Citation	IPEC-J2 (katalogové číslo Cytion 305571)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9823
CellosaurusAccession	CVCL_2246

Biomolekulární data

Zpracování

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/l glukózy, w: 4 mM L-glutaminu, w: 3,7 g/l NaHCO ₃ , w: 1,0 mM pyruvátu sodného (číslo výrobku Cytion 820300a)
Supplements	Doplňte médium o 10% FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Odstraňte staré médium z adherovaných buněk a promyjte je PBS bez vápníku a hořčíku. Pro baňky T25 použijte 3-5 ml PBS a pro baňky T75 5-10 ml. Poté buňky zcela zakryjte přípravkem TrypLE Express, a to 1-2 ml pro baňky T25 a 2,5 ml pro baňky T75. Nechte buňky inkubovat při pokojové teplotě po dobu 8-10 minut, aby se oddělily. Po inkubaci jemně promíchejte buňky s 10 ml média, aby byly znovu suspendovány, a poté je odstředte při 300xg po dobu 3 minut. Supernatant vyhoďte, buňky znovu rozpustte v čerstvém médiu a přeneste je do nových baněk, které již obsahují čerstvé médium.
Seeding density	1–3 × 10 ⁴ /cm ²
Fluid renewal	1 až 2krát týdně
Freeze medium	Jako kryokonzervační médium používáme kompletní růstové médium (včetně FBS) + 10 % DMSO pro zajištění dostatečné životaschopnosti po rozmrazení nebo CM-1 (katalogové číslo 800100 společnosti Cytion), které obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory pro zlepšení regenerace a snížení stresu způsobeného kryo.

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

1. Ověřte si, že lahvička zůstane při dodání hluboce zmrazená, protože buňky se přepravují na suchém ledu, aby se během přepravy udržely optimální teploty.
2. Po obdržení kryovialku buď okamžitě uložte při teplotě nižší než -150 °C, abyste zajistili zachování buněčné integrity, nebo přejděte ke kroku 3, pokud je nutná okamžitá kultivace.
3. Pro okamžitou kultivaci rychle rozmrazte lahvičku ponořením do vodní lázně o teplotě 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálním prostředkem a jemně ji míchejte po dobu 40-60 sekund, dokud nezůstane malý ledový chuchvalec.
4. Všechny další kroky provádějte za sterilních podmínek v průtokové digestoři a před otevřením kryovialku dezinfikujte 70% ethanolem.
5. Opatrně otevřete dezinfikovanou lahvičku a přeneste buněčnou suspenzi do 15 ml centrifugační zkumavky obsahující 8 ml kultivačního média o pokojové teplotě a jemně promíchejte.
6. Směs odstředujte při 300 x g po dobu 3 minut, aby se buňky oddělily, a supernatant obsahující zbytky mrazicího média opatrně zlikvidujte.
7. Pelety buněk jemně resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačního média. U adherentních buněk rozdělte suspenzi mezi dvě kultivační baňky T25; u suspenzních kultur přeneste veškeré médium do jedné baňky T25, abyste podpořili účinnou interakci a růst buněk.
8. Dodržujte zavedené subkultivační protokoly pro kontinuální růst a udržování buněčné linie, čímž zajistíte spolehlivé výsledky experimentů.

**Incubation
Atmosphere**

37 °C, 5 % CO_2 , zvlhčená atmosféra.

**Shipping
Conditions**

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

**Storage
Conditions**

Pro dlouhodobé uchování umístěte lahvičky do kapalného dusíku v plynné fázi při teplotě přibližně -150 až -196 °C. Skladování při -80 °C je přijatelné pouze jako krátký přechodný krok před přemístěním do kapalného dusíku.

Kontrola kvality a molekulární analýza

Buňky IPEC-J2 | 305571

Sterility

Kontaminace mykoplazmaty je vyloučena jak pomocí testů založených na PCR, tak pomocí luminiscenčních metod detekce mykoplazmy.

Aby se zajistilo, že nedojde ke kontaminaci bakteriemi, plísněmi nebo kvasinkami, jsou buněčné kultury denně podrobovány vizuálnímu kontrolám.