

Κύτταρα IPEC-J2 | 305571

Γενικές πληροφορίες

Description

Η κυτταρική σειρά IPEC-J2 είναι μια μη μετασχηματισμένη, μόνιμη επιθηλιακή κυτταρική σειρά που προέρχεται από το επιθήλιο του νήσιου ενός νεογέννητου, μη θηλασμένου χοιριδίου. Τα κύτταρα IPEC-J2 διατηρούν τα δομικά και λειτουργικά χαρακτηριστικά των ώριμων εντεροκυττάρων, γεγονός που τα καθιστά ένα εξαιρετικό μοντέλο για τη μελέτη της εντερικής φυσιολογίας και παθολογίας. Τα κύτταρα αυτά σχηματίζουν μια πολωμένη μονοστρωματική στρώση με στενές συνδέσεις και παρουσιάζουν υψηλή διαεπιθηλιακή ηλεκτρική αντίσταση (TEER), η οποία είναι απαραίτητη για τη διερεύνηση των λειτουργιών του επιθηλιακού φραγμού και της διαπερατότητας. Λόγω της χοίρειας προέλευσής τους, τα κύτταρα IPEC-J2 προσομοιάζουν πιο πιστά την ανθρώπινη εντερική φυσιολογία σε σύγκριση με σειρές που προέρχονται από τρωκτικά, όπως οι IEC-6 και IEC-18, ενισχύοντας έτσι τη σημασία τους στη ζωονοσολογική και τη συγκριτική έρευνα.

Από λειτουργική άποψη, τα κύτταρα IPEC-J2 εκφράζουν βασικούς δείκτες και κυτοκίνες που σχετίζονται με ανοσολογικές αποκρίσεις, όπως το TNF-α και το GM-CSF, και διαθέτουν μια σειρά από υποδοχείς τύπου Toll (TLRs) που διευκολύνουν τις μελέτες σχετικά με τις αλληλεπιδράσεις παθογόνου-ξενιστή. Αυτό τα έχει καταστήσει ανεκτίμητα για τη μικροβιολογική έρευνα, ιδίως κατά την εξέταση αλληλεπιδράσεων με παθογόνα όπως η *Salmonella enterica* και η παθογόνος *Escherichia coli*. Έχουν επίσης χρησιμοποιηθεί για την αξιολόγηση των επιδράσεων των προβιοτικών και των συμπληρωμάτων διατροφής στην εντερική υγεία, με εφαρμογές που περιλαμβάνουν την εκτίμηση αντιφλεγμονωδών και κυτταροπροστατευτικών αποκρίσεων.

Η έρευνα που αφορά τα κύτταρα IPEC-J2 έχει διερευνήσει τις αντιδράσεις τους στο οξειδωτικό στρες και τους προστατευτικούς μηχανισμούς τους. Για παράδειγμα, έχει αποδειχθεί ότι η εξωγενής γλουταθειόνη (GSH) προστατεύει τα κύτταρα IPEC-J2 από την οξειδωτική βλάβη ενισχύοντας τη λειτουργία των μιτοχονδρίων, βελτιώνοντας το δυναμικό της μιτοχονδριακής μεμβράνης και μειώνοντας τη συσσώρευση αντιδραστικών ειδών οξυγόνου (ROS). Αυτά τα ευρήματα υπογραμμίζουν τη χρησιμότητα του IPEC-J2 στη μελέτη των επιθηλιακών αντιδράσεων στο στρες και των πιθανών θεραπευτικών παρεμβάσεων για τη διατήρηση της ακεραιότητας του εντερικού φραγμού.

Organism

Χοίρος

Tissue

Λεπτό έντερο, νήστιδο

Disease

Κανονικό

Synonyms

IPECJ2, γραμμή επιθηλιακών κυττάρων του εντέρου χοίρου - J2

Χαρακτηριστικά

Age

Νεογέννητο

Gender

Απροσδιόριστο

Morphology

Επιθηλιοειδής

Κύτταρα IPEC-J2 | 305571

Cell type Εντεροκύτταρο**Growth properties** Προσκολλημένο

Ρυθμιστικά δεδομένα

Citation IPEC-J2 (αριθμός καταλόγου Cytion 305571)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9823**CellosaurusAccession** CVCL_2246

Βιομοριακά δεδομένα

Χειρισμός

Culture Medium DMEM, w: 4,5 g/L γλυκόζη, w: 4 mM L-γλουταμίνη, w: 3,7 g/L NaHCO₃, w: 1,0 mM πυρουβικό νάτριο (αριθμός άρθρου Cytion 820300a)**Supplements** Συμπληρώστε το μέσο με 10% FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Αφαιρέστε το παλιό μέσο από τα προσκολλημένα κύτταρα και πλύντε τα με PBS που δεν περιέχει ασβέστιο και μαγνήσιο. Για φιάλες T25, χρησιμοποιήστε 3-5 ml PBS και για φιάλες T75, χρησιμοποιήστε 5-10 ml. Στη συνέχεια, καλύψτε πλήρως τα κύτταρα με TrypLE Express, χρησιμοποιώντας 1-2 ml για φιάλες T25 και 2,5 ml για φιάλες T75. Αφήστε τα κύτταρα να επωαστούν σε θερμοκρασία δωματίου για 8-10 λεπτά για να αποκολληθούν. Μετά την επώαση, αναμείξτε απαλά τα κύτταρα με 10 ml μέσου για να ανασυσταθούν και, στη συνέχεια, φυγοκεντρίστε στα 300xg για 3 λεπτά. Απορρίψτε το υπερκείμενο υγρό, ανασυστάστε τα κύτταρα σε φρέσκο μέσο και μεταφέρετέ τα σε νέες φιάλες που περιέχουν ήδη φρέσκο μέσο.**Seeding density** 1-3*10⁴/cm²**Fluid renewal** 1 έως 2 φορές την εβδομάδα

Κύτταρα IPEC-J2 | 305571**Freeze medium**

Ως μέσο κρυοσυντήρησης, χρησιμοποιούμε πλήρες μέσο ανάπτυξης (συμπεριλαμβανομένου του FBS) + 10% DMSO για επαρκή βιωσιμότητα μετά την απόψυξη, ή CM-1 (αριθμός καταλόγου Cytion 800100), το οποίο περιλαμβάνει βελτιστοποιημένα ωσμοπροστατευτικά και μεταβολικούς σταθεροποιητές για την ενίσχυση της ανάκαμψης και τη μείωση του στρες που προκαλείται από την κρυοσυντήρηση.

Thawing and Culturing Cells

1. Επιβεβαιώστε ότι το φιαλίδιο παραμένει βαθιά παγωμένο κατά την παράδοση, καθώς τα κύτταρα αποστέλλονται σε ξηρό πάγο για να διατηρούνται οι βέλτιστες θερμοκρασίες κατά τη μεταφορά.
2. Κατά την παραλαβή, είτε αποθηκεύστε το κρυοφιαλίδιο αμέσως σε θερμοκρασίες κάτω των -150°C για να διασφαλίσετε τη διατήρηση της κυτταρικής ακεραιότητας, είτε προχωρήστε στο βήμα 3 εάν απαιτείται άμεση καλλιέργεια.
3. Για άμεση καλλιέργεια, αποψύξτε γρήγορα το φιαλίδιο βυθίζοντάς το σε υδατόλουτρο 37°C με καθαρό νερό και αντιμικροβιακό παράγοντα, αναδεύοντας απαλά για 40-60 δευτερόλεπτα μέχρι να παραμείνει ένα μικρό σβόλο πάγου.
4. Εκτελέστε όλα τα επόμενα βήματα υπό αποστειρωμένες συνθήκες σε απορροφητήρα ροής, απολυμαίνοντας το κρυοφιαλίδιο με 70% αιθανόλη πριν από το άνοιγμα.
5. Ανοίξτε προσεκτικά το απολυμασμένο φιαλίδιο και μεταφέρετε το εναιώρημα των κυττάρων σε ένα σωληνάριο φυγοκέντρησης των 15 ml που περιέχει 8 ml θρεπτικού μέσου καλλιέργειας σε θερμοκρασία δωματίου, αναμειγνύοντας απαλά.
6. Φυγοκεντρίστε το μείγμα στα $300 \times g$ για 3 λεπτά για να διαχωριστούν τα κύτταρα και απορρίψτε προσεκτικά το υπερκείμενο που περιέχει το υπόλοιπο μέσο κατάψυξης.
7. Επανασυσσωματώστε απαλά το κυτταρικό σφαιρίδιο σε 10 ml φρέσκου μέσου καλλιέργειας. Για προσκολλημένα κύτταρα, μοιράστε το εναιώρημα σε δύο φιάλες καλλιέργειας T25- για καλλιέργειες εναιωρήματος, μεταφέρετε όλο το μέσο σε μία φιάλη T25 για να προωθήσετε την αποτελεσματική αλληλεπίδραση και ανάπτυξη των κυττάρων.
8. Τηρείτε τα καθιερωμένα πρωτόκολλα υποκαλλιέργειας για τη συνεχή ανάπτυξη και διατήρηση της κυτταρικής σειράς, εξασφαλίζοντας αξιόπιστα πειραματικά αποτελέσματα.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , υγραποιημένη ατμόσφαιρα.

Shipping Conditions

Οι κρυοσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των -78°C καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.

Κύτταρα IPEC-J2 | 305571

Storage Conditions

Για μακροχρόνια συντήρηση, τοποθετήστε τα φιαλίδια σε υγρό άζωτο σε φάση ατμών σε θερμοκρασία περίπου -150 έως -196 °C. Η αποθήκευση στους -80 °C είναι αποδεκτή μόνο ως σύντομο ενδιάμεσο βήμα πριν από τη μεταφορά σε υγρό άζωτο.

Έλεγχος ποιότητας και μοριακή ανάλυση

Sterility

Η μόλυνση από μυκόπλασμα αποκλείεται με τη χρήση τόσο των δοκιμασιών που βασίζονται στην PCR όσο και των μεθόδων ανίχνευσης μυκοπλάσματος με βάση τη φωταύγεια.

Για να διασφαλιστεί ότι δεν υπάρχει μόλυνση από βακτήρια, μύκητες ή ζύμες, οι κυτταροκαλλιέργειες υποβάλλονται σε καθημερινές οπτικές επιθεωρήσεις.