

IPEC-J2 rakud | 305571

Üldine teave

Description

IPEC-J2 rakuliin on mittetransformeeritud püsiv epiteelirakuliin, mis on saadud vastsündinud, imetamata pörsakese jejunumi epiteelist. IPEC-J2 rakud säilitavad küpsete enterotsüütide struktuurilised ja funktsionaalsed omadused, mis teeb neist suurepärase mudeli soole füsioloogia ja patoloogia uurimiseks. Need rakud moodustavad polariseeritud monokihi tihedate liidestega ja neil on kõrge transepiteelne elektriline takistus (TEER), mis on oluline epiteelbarjääri funktsioonide ja läbilaskvuse uurimiseks. Tänu oma sigade päritolule jäljendavad IPEC-J2 rakud inimese soolefüsioloogiat täpsemalt kui närilistelt pärinevad liinid, nagu IEC-6 ja IEC-18, mis suurendab nende asjakohasust zoonootilistes ja võrdlevates uuringutes.

Funktsionaalselt ekspresseerivad IPEC-J2 rakud immuunvastustega seotud võtmemarkereid ja tsütokiine, nagu TNF- α ja GM-CSF, ning neil on mitmesuguseid toll-like retseptoreid (TLR-e), mis hõlbustavad patogeeni ja peremehe vaheliste interaktsioonide uurimist. See on muutnud need rakud hindamatuks mikrobioloogilistes uuringutes, eriti suhtlemise uurimisel selliste patogeenidega nagu *Salmonella enterica* ja patogeenne *Escherichia coli*. Neid on kasutatud ka probiootikumide ja toidulisandite mõju hindamiseks soole tervisele, sealhulgas põletikuvastaste ja tsütoprotektiivsete reaktsioonide hindamisel.

IPEC-J2-ga seotud uuringutes on uuritud nende reaktsioone oksüdatiivsele stressile ja nende kaitsemehhanisme. Näiteks on näidatud, et eksogeenne glutatioon (GSH) kaitseb IPEC-J2 rakke oksüdatiivse kahjustuse eest, tugevdades mitokondrite funktsiooni, parandades mitokondrite membraanipotentsiaali ja vähendades reaktiivsete hapnikuliikide (ROS) kogunemist. Need tulemused rõhutavad IPEC-J2 kasulikkust epiteeli stressireaktsioonide uurimisel ja potentsiaalsete terapeutiliste sekkumiste väljatöötamisel soolebarjääri terviklikkuse säilitamiseks.

Organism

Siga

Tissue

Peensoole, jejunum

Disease

Tavaline

Synonyms

IPECJ2, sigade soole epiteelirakkude liin J2

Omadused

Age

Vastsündinu

Gender

Täpsustamata

Morphology

Epiteelilaadsed

Cell type

entotsüüt

Growth properties

Kinnipeetav

IPEC-J2 rakud | 305571

Regulatiivsed andmed

Citation	IPEC-J2 (Cytioni katalooginumber 305571)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9823
CellosaurusAccession	CVCL_2246

Biomolekulaarsed andmed

Töötlemine

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/L glükoosi, w: 4 mM L-glutamiini, w: 3,7 g/L NaHCO ₃ , w: 1,0 mM naatriumpüruvaati (Cytioni artikli number 820300a)
Supplements	Täiendada söötme 10% FBS-ga
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Eemaldage kleepunud rakkudel vana söötme ja peske neid PBS-ga, milles puudub kaltsium ja magneesium. T25 kolbide puhul kasutage 3-5 ml PBS-i ja T75 kolbide puhul 5-10 ml. Seejärel katke rakud täielikult TrypLE Expressiga, kasutades 1-2 ml T25 kolbide puhul ja 2,5 ml T75 kolbide puhul. Laske rakkudel inkubeeruda 8-10 minutit toatemperatuuril, et need eralduksid. Pärast inkubeerimist segage rakud ettevaatlikult 10 ml söötmega, et neid resuspenseerida, seejärel tsentrifuugige 3 minutit 300xg juures. Visake supernatant ära, suspenseerige rakud uuesti värskes keskkonnas ja viige need uutesse kolvidesse, mis sisaldavad juba värsket keskkonda.
Seeding density	$1-3 \times 10^4/\text{cm}^2$
Fluid renewal	1-2 korda nädalas
Freeze medium	Krüosäilitusvedelikusena kasutame täielikku kasvukeskkonda (sh FBS) + 10% DMSO, et tagada piisav elujõulisus pärast sulatamist, või CM-1 (Cytioni katalooginumber 800100), mis sisaldab optimeeritud osmoprotektante ja metaboolseid stabilisaatoreid, et parandada taastumist ja vähendada krüostressi.

IPEC-J2 rakud | 305571

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Veenduge, et vial jääb tarnimisel sügavkülmutatud, sest rakud transporditakse kuiva jääga, et säilitada optimaalne temperatuur transpordi ajal.
2. Pärast kättesaamist säilitage krüoviaal kas kohe temperatuuril alla -150°C , et tagada rakkude terviklikkuse säilimine, või jätkake sammuga 3, kui on vaja koheselt kultiveerida.
3. Kohese kultiveerimise korral sulatage vial kiiresti, kastes selle 37°C veevanni puhta vee ja antimikroobse ainega, segades seda õrnalt 40-60 sekundit, kuni alles jääb väike jääklomp.
4. Tehke kõik järgmised toimingud steriilsetes tingimustes vooluhoodis, desinfitseerides krüoviaal enne avamist 70% etanooliga.
5. Avage desinfitseeritud vial ettevaatlikult ja viige rakususpensioon ettevaatlikult segades 15 ml tsentrifuugitorusse, mis sisaldab 8 ml toatemperatuuril olevat kasvukeskkonda.
6. Rakkude eraldamiseks tsentrifuugige segu $300 \times g$ juures 3 minutit ja visake ülejäänud külmutusvedelikku sisaldav supernatant ettevaatlikult ära.
7. Resuspendeerige rakupellet ettevaatlikult 10 ml värskes kasvukeskkonnas. Adhereeruvate rakkude puhul jagage suspensioon kahe T25 kultuurkolvi vahel; suspensioonikultuuride puhul kandke kogu söötme keskkond ühte T25 kolbi, et soodustada rakkude tõhusat koostoimet ja kasvu.
8. Järgige kehtestatud subkultuuriprotokolle rakuliini jätkuvaks kasvuks ja säilitamiseks, tagades usaldusväärsed katsetulemused.

**Incubation
Atmosphere**

37°C , 5% CO_2 , niisutatud atmosfäär.

**Shipping
Conditions**

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu -78°C . Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

**Storage
Conditions**

Pikaajaliseks säilitamiseks asetage vialid aurufaasis vedela lämmastikuga umbes -150 kuni -196°C juures. Säilitamine temperatuuril -80°C on vastuvõetav ainult lühikese vaheetapina enne vedela lämmastikuga üleviimist.

Kvaliteedikontroll ja molekulaaranalüüs

IPEC-J2 rakud | 305571

Sterility

Mükoplasma kontaminatsioon on välistatud nii PCR-põhiste analüüside kui ka luminesentsil põhinevate mükoplasma tuvastamise meetodite abil.

Bakteriaalse, seene- või pärmsaaste puudumise tagamiseks kontrollitakse rakukultuure iga päev visuaalselt.