

IPEC-J2-solut | 305571

Yleisiä tietoja

Description

IPEC-J2-solulinja on muuntumaton, pysyvä epiteelisolulinja, joka on peräisin vastasyntyneen, imettämättömän porsaan jejunum-epiteelistä. IPEC-J2-solut säilyttävät kypsien enterosyyttien rakenteelliset ja toiminnalliset ominaisuudet, mikä tekee niistä erinomaisen mallin suoliston fysiologian ja patologian tutkimiseen. Nämä solut muodostavat polarisoituneen yksikerroksen, jossa on tiiviitä liitoksia, ja niillä on korkea transepiteelinen sähköinen vastus (TEER), mikä on olennaista epiteelibarrierin toimintojen ja läpäisevyyden tutkimiselle. Sian alkuperänsä ansiosta IPEC-J2-solut jäljittelevät ihmisen suoliston fysiologiaa tarkemmin kuin jyrsijöistä peräisin olevat solulinjat, kuten IEC-6 ja IEC-18, mikä lisää niiden merkitystä zoonoottisessa ja vertailevassa tutkimuksessa.

Toiminnallisesti IPEC-J2-solut ilmentävät immuunivasteisiin liittyviä avainmarkkereita ja sytokiineja, kuten TNF- α :ta ja GM-CSF:ää, ja niillä on useita toll-kaltaisia reseptoreita (TLR:iä), jotka helpottavat patogeenin ja isännän välisten vuorovaikutusten tutkimusta. Tämä on tehnyt niistä korvaamattomia mikrobiologisessa tutkimuksessa, erityisesti tutkittaessa vuorovaikutusta patogeenein, kuten *Salmonella enterica*:n ja patogeenisen *Escherichia coli*:n, kanssa. Niitä on käytetty myös probioottien ja ravintolisien vaikutusten arvioimiseen suoliston terveyteen, ja sovelluksiin kuuluu muun muassa tulehdusta hillitsevien ja soluja suojaavien vasteiden arviointi.

IPEC-J2-soluja koskevassa tutkimuksessa on selvitetty niiden reaktioita oksidatiiviseen stressiin ja niiden suojausmekanismeja. Esimerkiksi on osoitettu, että eksogeeninen glutationi (GSH) suojaa IPEC-J2-soluja oksidatiivisilta vaurioilta parantamalla mitokondrioiden toimintaa, kohentamalla mitokondrioiden kalvopotentiaalia ja vähentämällä reaktiivisten happiyhdisteiden (ROS) kertymistä. Nämä havainnot korostavat IPEC-J2:n hyödyllisyyttä epiteelisolujen stressivasteiden tutkimuksessa sekä mahdollisissa terapeuttisissa toimenpiteissä suoliston esteen eheyden ylläpitämiseksi.

Organism Sika

Tissue Ohutsuoli, jejunum

Disease Normaaali

Synonyms IPECJ2, sian suoliston epiteelisolulinja J2

Ominaisuudet

Age Vastasyntynyt

Gender Määrittelemätön

Morphology Epiteelin kaltainen

Cell type Entosyytti

IPEC-J2-solut | 305571

Growth properties	Tarttuva
--------------------------	----------

Säätelytiedot

Citation	IPEC-J2 (Cytionin tuotenumero 305571)
-----------------	---------------------------------------

Biosafety level	1
------------------------	---

NCBI_TaxID	9823
-------------------	------

CellosaurusAccession	CVCL_2246
-----------------------------	-----------

Biomolekyyli tiedot

Käsittely

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/l glukoosia, w: 4 mM L-glutamiinia, w: 3,7 g/l NaHCO ₃ , w: 1,0 mM natriumpyruvaattia (Cytionin artikkelinumero 820300a)
-----------------------	--

Supplements	Täydennetään elatusainetta 10 %:lla FBS:llä
--------------------	---

Dissociation Reagent	Accutase
-----------------------------	----------

Subculturing	Poista vanha väliaine tarttuneista soluista ja pese ne PBS:llä, josta puuttuu kalsiumia ja magnesiumia. Käytä T25-pulloissa 3-5 ml PBS:ää ja T75-pulloissa 5-10 ml. Peitä sitten solut kokonaan TrypLE Express -valmisteella, käyttäen 1-2 ml T25-pulloissa ja 2,5 ml T75-pulloissa. Anna solujen inkuboitua huoneenlämmössä 8-10 minuuttia solujen irtoamiseksi. Inkuboinnin jälkeen sekoita solut varovasti 10 ml:lla elatusainetta niiden resuspendoimiseksi ja sentrifugoi sitten 300xg:n nopeudella 3 minuutin ajan. Hävitä supernatantti, suspendoi solut uudelleen tuoreeseen väliaineeseen ja siirrä ne uusiin pulloihin, jotka sisältävät jo tuoretta väliaineita.
---------------------	---

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

Fluid renewal	1-2 kertaa viikossa
----------------------	---------------------

Freeze medium	Kryosäilytysmediana käytämme täydellistä kasvualustaa (mukaan lukien FBS) + 10 % DMSO:ta riittävän sulatuksen jälkeisen elinkelpoisuuden varmistamiseksi tai CM-1:tä (Cytionin luettelonumero 800100), joka sisältää optimoituja osmoprotectantteja ja metabolisia stabilisaattoreita, jotka parantavat elpymistä ja vähentävät kryosäilytyksen aiheuttamaa stressiä.
----------------------	---

IPEC-J2-solut | 305571

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Varmista, että injektiopullo pysyy syväjäädetyttynä toimitettaessa, sillä solut kuljetetaan kuivajäädessä, jotta optimaalinen lämpötila säilyy kuljetuksen aikana.
2. Vastaanotettaessa kryopullo joko säilytetään välittömästi alle -150 °C:n lämpötilassa solujen eheyden säilyttämiseksi tai edetään vaiheeseen 3, jos tarvitaan välitöntä viljelyä.
3. Välitöntä viljelyä varten sulata injektiopullo nopeasti upottamalla se 37 °C:n vesihauteeseen, jossa on puhdasta vettä ja mikrobilääkettä, ja sekoittamalla sitä varovasti 40-60 sekunnin ajan, kunnes jäädästä on jäljellä pieni jäämöhkäle.
4. Suorita kaikki seuraavat vaiheet steriileissä olosuhteissa virtaushupussa ja desinfioi kryopullo 70-prosenttisella etanolilla ennen avaamista.
5. Avaa desinfioitu injektiopullo varovasti ja siirrä solususpensio 15 ml:n sentrifugiputkeen, joka sisältää 8 ml huoneenlämpöistä elatusainetta, varovasti sekoittaen.
6. Sentrifugoi seosta 300 x g:n voimakkuudella 3 minuutin ajan solujen erottamiseksi ja hävitä varovasti supernatantti, joka sisältää jäännöspakastusmediumia.
7. Suspendoidaan solupelletti varovasti uudelleen 10 ml:aan tuoretta elatusainetta. Jos solut ovat tarttuvia, jaa suspensio kahden T25-kolvin kesken; jos kyseessä ovat suspensioviljelmät, siirrä kaikki väliaine yhteen T25-kolviin solujen tehokkaan vuorovaikutuksen ja kasvun edistämiseksi.
8. Noudata vakiintuneita aliviljelyprotokollia solulinjan jatkuvan kasvun ja ylläpidon varmistamiseksi ja luotettavien kokeellisten tulosten varmistamiseksi.

**Incubation
Atmosphere**

37 °C, 5 % CO_2 , kostutettu ilmakehä.

**Shipping
Conditions**

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäädessä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

**Storage
Conditions**

Pitkäaikaissäilytystä varten injektiopullot asetetaan höyryfaasissa olevaan nestemäiseen tyypeen noin -150 - -196 °C:een. Säilytys -80 °C:ssa on hyväksyttävää vain lyhyenä välivaiheena ennen siirtoa nestemäiseen tyypeen.

Laadunvalvonta ja molekyylianalyysi

IPEC-J2-solut | 305571

Sterility

Mykoplasmakontaminaatio suljetaan pois sekä PCR-pohjaisilla määrityksillä että luminesenssiin perustuvilla mykoplasman osoitusmenetelmillä.

Bakteeri-, sieni- tai hiivakontaminaation välttämiseksi soluviljelmät tarkastetaan päivittäin silmämääräisesti.