

IPEC-J2 ląstelės | 305571

Bendra informacija

Description

IPEC-J2 ląstelių linija yra netransformuota, nuolatinė epitelio ląstelių linija, gauta iš naujagimio, nemaitinto paršeliuko tuščiosios žarnos epitelio. IPEC-J2 ląstelės išlaiko subrendusių enterocitų struktūrines ir funkcines savybes, todėl jos yra puikus modelis žarnyno fiziologijos ir patologijos tyrimams. Šios ląstelės sudaro poliarizuotą monosluoksňį su glaudžiais jungimais ir pasižymi didele transepiteline elektrine varža (TEER), kuri yra būtina epitelio barjero funkcijų ir pralaidumo tyrimams. Dėl kiaulės kilmės IPEC-J2 ląstelės labiau atkuria žmogaus žarnyno fiziologiją, palyginti su graužikų kilmės linijomis, tokiomis kaip IEC-6 ir IEC-18, todėl jos yra ypač tinkamos zoonozinių ir lyginamųjų tyrimų srityje.

Funkciniu požiūriu IPEC-J2 ląstelės ekspresuoja pagrindinius žymenis ir citokinus, susijusius su imuniniais atsakais, pavyzdžiui, TNF- α ir GM-CSF, bei turi įvairių „Toll-like“ receptorių (TLR), kurie palengvina tyrimus apie patogenų ir šeimininko sąveikas. Dėl to jos tapo nepakeičiamos mikrobiologiniuose tyrimuose, ypač tiriant sąveiką su patogenais, tokiais kaip *Salmonella enterica* ir patogeninė *Escherichia coli*. Jos taip pat buvo naudojamos vertinant probiotikų ir maisto papildų poveikį žarnyno sveikatai, įskaitant uždegimą slopinančių ir ląsteles apsaugančių reakcijų vertinimą.

Tyrimuose su IPEC-J2 ląstelėmis buvo tiriamos jų reakcijos į oksidacinį stresą ir jų apsauginiai mechanizmai. Pavyzdžiui, nustatyta, kad egzogeninis glutationas (GSH) apsaugo IPEC-J2 ląsteles nuo oksidacinės žalos, stiprindamas mitochondrijų funkciją, gerindamas mitochondrijų membranos potencialą ir mažindamas reaktyviųjų deguonies rūšių (ROS) kaupimąsi. Šie rezultatai pabrėžia IPEC-J2 naudą tiriant epitelio reakcijas į stresą ir galimas terapines intervencijas, skirtas žarnyno barjero vientisumui išlaikyti.

Organism

Kiaulė

Tissue

Plonoji žarna, tuščioji žarna

Disease

Normalus

Synonyms

IPECJ2, kiaulių žarnyno epitelio ląstelių linija J2

Charakteristikos

Age

Naujagimis

Gender

Nenustatyta

Morphology

Į epitelį panašus

Cell type

Enterocitas

Growth properties

Priglundęs

IPEC-J2 ląstelės | 305571

Reguliavimo duomenys

Citation	IPEC-J2 (Cytion katalogo numeris 305571)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9823
CellosaurusAccession	CVCL_2246

Biomolekuliniai duomenys

Tvarkymas

Culture Medium	DMEM, š: 4,5 g/l gliukozės, š: 4 mM L-glutamino, š: 3,7 g/l NaHCO ₃ , š: 1,0 mM natrio piruvato (Cytion gaminio numeris 820300a)
Supplements	Papildykite terpę 10 % FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Pašalinkite seną terpę nuo prilipusių ląstelių ir nuplaukite jas PBS, kuriame nėra kalcio ir magnio. T25 kolboms naudokite 3-5 ml PBS, o T75 kolboms - 5-10 ml. Tada visiškai užtepkite "TrypLE Express", naudodami 1-2 ml T25 kolboms ir 2,5 ml T75 kolboms. Leiskite ląstelėms inkubuotis kambario temperatūroje 8-10 minučių, kad jos atsiskirtų. Po inkubacijos atsargiai sumaišykite ląsteles su 10 ml terpės, kad jos vėl suspenduotų, tada 3 minutes centrifuguokite 300xg greičiu. Išmeskite supernatantą, vėl sutirpinkite ląsteles šviežioje terpėje ir perkelti jas į naujas kolbas, kuriose jau yra šviežia terpė.
Seeding density	$1-3 \times 10^4/\text{cm}^2$
Fluid renewal	1-2 kartus per savaitę
Freeze medium	Kaip kriokonservavimo terpę naudojame visišką augimo terpę (įskaitant FBS) + 10 % DMSO, kad būtų užtikrintas tinkamas gyvybingumas po atšildymo, arba CM-1 (Cytion katalogo numeris 800100), kurioje yra optimizuotų osmoprotektorių ir medžiagų apykaitos stabilizatorių, kad būtų pagerintas atsigavimas ir sumažintas kriokonservavimo sukeltas stresas.

IPEC-J2 ląstelės | 305571

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Patikrinkite, ar pristatant buteliuką jis išlieka gerai užšaldytas, nes ląstelės gabenamos ant sauso ledo, kad gabenimo metu būtų palaikoma optimali temperatūra.
2. Gavę iš karto laikykite kriovialą žemesnėje nei -150°C temperatūroje, kad užtikrintumėte ląstelių vientisumo išsaugojimą, arba pereikite prie 3 veiksmo, jei reikia nedelsiant kultivuoti.
3. Jei norite nedelsiant pradėti kultivuoti, greitai atšildykite buteliuką panardindami jį į 37°C temperatūros vandens vonelę su švariu vandeniu ir antimikrobine priemone, švelniai maišydami 40-60 sekundžių, kol liks nedidelis ledo gabalėlis.
4. Visus tolesnius veiksmus atlikite steriliomis sąlygomis srauto gaubte, prieš atidarydami kriovialą dezinfekuokite jį 70 % etanoliu.
5. Atsargiai atidarykite dezinfekuotą buteliuką ir perpilkite ląstelių suspensiją į 15 ml centrifugos mėgintuvėlį, kuriame yra 8 ml kambario temperatūros mitybinės terpės, atsargiai išmaišykite.
6. Mišinį centrifuguokite 300 x g greičiu 3 minutes, kad atsiskirtų ląstelės, ir atsargiai išmeskite supernatantą su šaldymo terpės likučiais.
7. Švelniai resuspenduokite ląstelių granules 10 ml šviežios mitybinės terpės. Jei ląstelės yra prigludusios, suspensiją padalykite į dvi T25 kolbas; jei tai suspensinės kultūros, visą terpę perkelti į vieną T25 kolbą, kad paskatintumėte veiksmingą ląstelių sąveiką ir augimą.
8. Laikykitės nustatytų subkultūrų protokolų, kad ląstelių linija nuolat augtų ir būtų palaikoma, taip užtikrinant patikimus eksperimentų rezultatus.

**Incubation
Atmosphere**

37°C , 5 % CO_2 , drėkintoje atmosferoje.

**Shipping
Conditions**

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug -78°C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelti mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

**Storage
Conditions**

Norėdami ilgai saugoti, įdėkite buteliukus į garų fazės skystą azotą maždaug -150 - 196°C temperatūroje. Laikymas -80°C temperatūroje yra priimtinas tik kaip trumpas tarpinis etapas prieš perkelti į skystąjį azotą.

Kokybės kontrolė ir molekulinė analizė

IPEC-J2 ląstelės | 305571

Sterility

Mikoplazmos užterštumas atmetamas taikant PGR pagrįstus tyrimus ir liuminescencinius mikoplazmos aptikimo metodus.

Siekiant užtikrinti, kad nebūtų užteršimo bakterijomis, grybeliais ar mielėmis, ląstelių kultūros kasdien vizualiai tikrinamos.