

Komórki IPEC-J2 | 305571

Informacje ogólne

Description

Linia komórkowa IPEC-J2 to nietransformowana, stała linia komórek nabłonkowych pochodząca z nabłonka jelita czczego noworodkowego prosiaka, który nie był karmiony mlekiem matki. Komórki IPEC-J2 zachowują cechy strukturalne i funkcjonalne dojrzałych enterocytów, co czyni je doskonałym modelem do badania fizjologii i patologii jelit. Komórki te tworzą spolaryzowaną monowarstwę z połączeniami ścisłymi i wykazują wysoką transepithelialną rezystancję elektryczną (TEER), co jest niezbędne do badania funkcji bariery nabłonkowej i jej przepuszczalności. Ze względu na swoje świńskie pochodzenie komórki IPEC-J2 bardziej wiernie odzwierciedlają fizjologię jelit człowieka w porównaniu z liniami pochodzącymi od gryzoni, takimi jak IEC-6 i IEC-18, co zwiększa ich znaczenie w badaniach nad chorobami odzwierzęcymi oraz badaniach porównawczych.

Pod względem funkcjonalnym komórki IPEC-J2 wyrażają kluczowe markery i cytokiny związane z odpowiedziami immunologicznymi, takie jak TNF- α i GM-CSF, oraz posiadają szereg receptorów typu Toll-podobnego (TLR), które ułatwiają badania nad interakcjami między patogenami a gospodarzem. Dzięki temu stały się one nieocenionym narzędziem w badaniach mikrobiologicznych, szczególnie w analizie interakcji z patogenami, takimi jak *Salmonella enterica* i patogenna *Escherichia coli*. Wykorzystuje się je również do oceny wpływu probiotyków i suplementów diety na zdrowie jelit, a ich zastosowania obejmują między innymi ocenę odpowiedzi przeciwzapalnych i cytoprotekcyjnych.

W badaniach z wykorzystaniem komórek IPEC-J2 analizowano ich reakcje na stres oksydacyjny oraz mechanizmy ochronne. Na przykład wykazano, że egzogenne glutation (GSH) chroni komórki IPEC-J2 przed uszkodzeniami oksydacyjnymi poprzez wzmocnienie funkcji mitochondriów, poprawę potencjału błony mitochondrialnej oraz zmniejszenie gromadzenia się reaktywnych form tlenu (ROS). Odkrycia te podkreślają przydatność komórek IPEC-J2 w badaniu reakcji nabłonkowych na stres oraz potencjalnych interwencji terapeutycznych mających na celu utrzymanie integralności bariery jelitowej.

Organism

Świnia

Tissue

Jelito cienkie, jelito czcze

Disease

Normalny

Synonyms

IPECJ2, linia komórek nabłonkowych jelita świni – J2

Charakterystyka

Age

Noworodek

Gender

Nieokreślony

Morphology

Podobny do nabłonka

Cell type

Enterocyt

Komórki IPEC-J2 | 305571

Growth properties	Adherent
--------------------------	----------

Dane regulacyjne

Citation	IPEC-J2 (numer katalogowy Cytion 305571)
-----------------	--

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

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

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

Dane biomolekularne

Obsługa

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/l glukozy, w: 4 mM L-glutaminy, w: 3,7 g/l NaHCO ₃ , w: 1,0 mM pirogronianu sodu (numer artykułu Cytion 820300a)
-----------------------	--

Supplements	Uzupełnić podłoże 10% FBS
--------------------	---------------------------

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

Subculturing	Usun starą pożywkę z przylegających komórek i przemyj je PBS, który nie zawiera wapnia i magnezu. W przypadku kolb T25 należy użyć 3-5 ml PBS, a w przypadku kolb T75 5-10 ml. Następnie całkowicie pokryj komórki preparatem TrypLE Express, używając 1-2 ml dla kolb T25 i 2,5 ml dla kolb T75. Pozostaw komórki do inkubacji w temperaturze pokojowej przez 8-10 minut w celu ich odłączenia. Po inkubacji delikatnie wymieszaj komórki z 10 ml pożywki, aby ponownie je zawiesić, a następnie odwiruj przy 300xg przez 3 minuty. Odrzuć supernatant, ponownie zawiesić komórki w świeżej pożywce i przenieść je do nowych kolb zawierających już świeżą pożywkę.
---------------------	--

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

Fluid renewal	1-2 razy w tygodniu
----------------------	---------------------

Freeze medium	Jako pożywki do kriokonserwacji używamy kompletnej pożywki wzrostowej (w tym FBS) + 10% DMSO w celu zapewnienia odpowiedniej żywotności po rozmrożeniu lub CM-1 (numer katalogowy Cytion 800100), która zawiera zoptymalizowane osmoprotektanty i stabilizatory metaboliczne w celu zwiększenia regeneracji i zmniejszenia stresu wywołanego kriokonserwacją.
----------------------	---

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

1. Upewnij się, że fiolka pozostaje głęboko zamrożona w momencie dostawy, ponieważ komórki są wysyłane w suchym lodzie, aby utrzymać optymalną temperaturę podczas transportu.
2. Po otrzymaniu należy natychmiast przechowywać fiolkę w temperaturze poniżej -150°C , aby zapewnić zachowanie integralności komórek, lub przejść do kroku 3, jeśli wymagana jest natychmiastowa hodowla.
3. W przypadku natychmiastowej hodowli należy szybko rozmrozić fiolkę, zanurzając ją w łaźni wodnej o temperaturze 37°C z czystą wodą i środkiem przeciwdrobnoustrojowym, delikatnie mieszając przez 40-60 sekund, aż pozostanie niewielka grudka lodu.
4. Wykonaj wszystkie kolejne kroki w sterylnych warunkach w kapturze przepływowej, dezynfekując fiolkę 70% etanolem przed otwarciem.
5. Ostrożnie otworzyć zdezynfekowaną fiolkę i przenieść zawiesinę komórek do 15 ml probówki wirówkowej zawierającej 8 ml podłoża hodowlanego o temperaturze pokojowej, delikatnie mieszając.
6. Wirować mieszaninę z prędkością $300 \times g$ przez 3 minuty w celu oddzielenia komórek i ostrożnie odrzucić supernatant zawierający pozostałości pożywki do zamrażania.
7. Delikatnie ponownie zawiesić osad komórek w 10 ml świeżego podłoża hodowlanego. W przypadku komórek przylegających, rozdzielić zawiesinę pomiędzy dwie kolby hodowlane T25; w przypadku hodowli zawiesinowych, przenieść całą pożywkę do jednej kolby T25 w celu promowania skutecznej interakcji i wzrostu komórek.
8. Przestrzegaj ustalonych protokołów podhodowli w celu ciągłego wzrostu i utrzymania linii komórkowej, zapewniając wiarygodne wyniki eksperymentów.

**Incubation
Atmosphere**

37°C , 5% CO_2 , nawilżona atmosfera.

**Shipping
Conditions**

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

**Storage
Conditions**

W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiolki w ciekłym azocie w fazie lotnej w temperaturze od -150 do -196°C . Przechowywanie w temperaturze -80°C jest dopuszczalne tylko jako krótki etap przejściowy przed przeniesieniem do ciekłego azotu.

Komórki IPEC-J2 | 305571

Kontrola jakości i analiza molekularna

Sterility

Zanieczyszczenie mykoplazmą jest wykluczane przy użyciu zarówno testów opartych na PCR, jak i metod wykrywania mykoplazmy opartych na luminescencji.

Aby upewnić się, że nie ma zanieczyszczenia bakteriami, grzybami lub drożdżami, hodowle komórkowe są poddawane codziennym kontrolom wizualnym.