

Bunky IPEC-J2 | 305571**Všeobecné informácie****Description**

Bunka IPEC-J2 je netransformovaná, trvalá epiteliálna bunka odvodená z epitelu jejuna novorodeného, nekojeného prasiatka. Bunky IPEC-J2 si zachovávajú štrukturálne a funkčné charakteristiky zreých enterocytov, čo z nich robí vynikajúci model na štúdium fyziológie a patológie čreva. Tieto bunky tvoria polarizovanú monovrstvu s tesnými spojmi a vykazujú vysoký transepiteliálny elektrický odpor (TEER), čo je nevyhnutné na skúmanie funkcií a permeability epiteliálnej bariéry. Vďaka svojmu prasačiemu pôvodu bunky IPEC-J2 vernejšie napodobňujú fyziológiu ľudského čreva v porovnaní s líniami odvodenými z hlodavcov, ako sú IEC-6 a IEC-18, čo zvyšuje ich význam v zoonotickom a komparatívnom výskume.

Z funkčného hľadiska bunky IPEC-J2 exprimujú kľúčové markery a cytokíny spojené s imunitnými reakciami, ako sú TNF- α a GM-CSF, a disponujú radom toll-like receptorov (TLR), ktoré uľahčujú štúdium interakcií medzi patogénom a hostiteľom. Vďaka tomu sú neoceniteľné pre mikrobiologický výskum, najmä pri skúmaní interakcií s patogénmi, ako sú *Salmonella enterica* a patogénna *Escherichia coli*. Využívajú sa tiež na hodnotenie účinkov probiotík a výživových doplnkov na zdravie čriev, pričom medzi ich aplikácie patrí aj posudzovanie protizápalových a cytoprotektívnych reakcií.

Výskum s využitím buniek IPEC-J2 sa zameria na ich reakcie na oxidačný stres a ich ochranné mechanizmy. Napríklad sa preukázalo, že exogénny glutatión (GSH) chráni bunky IPEC-J2 pred oxidačným poškodením tým, že posilňuje mitochondriálnu funkciu, zlepšuje mitochondriálny membránový potenciál a znižuje akumuláciu reaktívnych foriem kyslíka (ROS). Tieto zistenia zdôrazňujú užitočnosť buniek IPEC-J2 pri štúdiu epiteliálnych reakcií na stres a potenciálnych terapeutických intervencií na udržanie integrity črevnej bariéry.

Organism

Ošípané

Tissue

Tenké črevo, jejunum

Disease

Normálne

Synonyms

IPECJ2, črevná epitelová bunková línia ošípaných – J2

Charakteristika**Age**

Novorodenec

Gender

Nešpecifikované

Morphology

Epitelu podobné

Cell type

Enterocyt

Growth properties

Adherent

Bunky IPEC-J2 | 305571**Regulačné údaje**

Citation	IPEC-J2 (katalógové číslo spoločnosti Cytion 305571)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9823
CellosaurusAccession	CVCL_2246

Biomolekulárne údaje**Spracovanie**

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/l glukózy, w: 4 mM L-glutamínu, w: 3,7 g/l NaHCO ₃ , w: 1,0 mM pyruvátu sodného (číslo výrobku Cytion 820300a)
Supplements	Doplňte médium o 10 % FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Odstráňte staré médium z adherovaných buniek a premyte ich PBS, ktorý neobsahuje vápnik a horčík. Pre banky T25 použite 3 - 5 ml PBS a pre banky T75 použite 5 - 10 ml. Potom bunky úplne zakryte prípravkom TrypLE Express, pričom použite 1 - 2 ml pre banky T25 a 2,5 ml pre banky T75. Nechajte bunky inkubovať pri izbovej teplote 8-10 minút, aby sa oddelili. Po inkubácii jemne premiešajte bunky s 10 ml média, aby boli znovu suspendované, a potom ich 3 minúty odstredíte pri 300xg. Supernatant zlikvidujte, bunky znovu rozmiešajte v čerstvom médiu a preneste ich do nových fliaš, ktoré už obsahujú čerstvé médium.
Seeding density	$1-3 \times 10^4/\text{cm}^2$
Fluid renewal	1 až 2-krát týždenne
Freeze medium	Ako kryokonzervačné médium používame kompletne rastové médium (vrátane FBS) + 10 % DMSO na zabezpečenie primeranej životaschopnosti po rozmrazení alebo CM-1 (katalógové číslo 800100 spoločnosti Cytion), ktoré obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory na zlepšenie obnovy a zníženie stresu spôsobeného kryom.

Bunky IPEC-J2 | 305571

Thawing and Culturing Cells

1. Overte si, že injekčná liekovka zostane pri doručení hlboko zmrazená, pretože bunky sa prepravujú na suchom ľade, aby sa počas prepravy udržala optimálna teplota.
2. Po prijatí buď okamžite uskladnite kryovialku pri teplote nižšej ako -150 °C, aby ste zabezpečili zachovanie bunkovej integrity, alebo prejdite na krok 3, ak je potrebná okamžitá kultivácia.
3. V prípade okamžitej kultivácie injekčnú liekovku rýchlo rozmrazte ponorením do vodného kúpeľa s teplotou 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálnym prostriedkom, pričom ju jemne miešajte 40 - 60 sekúnd, kým nezostane malý ľadový chumáč.
4. Všetky ďalšie kroky vykonajte v sterilných podmienkach v prietokovom digestore a pred otvorením kryovialku dezinfikujte 70 % etanolom.
5. Opatrne otvorte dezinfikovanú fľaštičku a preneste bunkovú suspenziu do 15 ml centrifugačnej skúmavky obsahujúcej 8 ml kultivačného média s izbovou teplotou a jemne premiešajte.
6. Zmes odstreďujte pri 300 x g počas 3 minút, aby sa bunky oddelili, a opatrne zlikvidujte supernatant obsahujúci zvyšky zmrazovacieho média.
7. Pelet buniek jemne resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačného média. V prípade adherentných buniek rozdeľte suspenziu medzi dve kultivačné banky T25; v prípade suspenzných kultúr preneste všetko médium do jednej banky T25, aby ste podporili účinnú interakciu a rast buniek.
8. Dodržiavajte zavedené subkultivačné protokoly na nepretržitý rast a udržiavanie bunkovej línie, čím sa zabezpečia spoľahlivé výsledky experimentov.

Incubation Atmosphere

37 °C, 5 % CO_2 , zvlhčená atmosféra.

Shipping Conditions

Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne -78 °C počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

Storage Conditions

Na dlhodobé uchovávanie umiestnite injekčné liekovky do kvapalnej fázy dusíka v pare pri teplote približne -150 až -196 °C. Skladovanie pri teplote -80 °C je prijateľné len ako krátky prechodný krok pred presunom do tekutého dusíka.

Kontrola kvality a molekulárna analýza

Bunky IPEC-J2 | 305571

Sterility

Kontaminácia mykoplazmami sa vylučuje pomocou testov založených na PCR a metód detekcie mykoplaziem založených na luminiscencii.

Aby sa zabezpečilo, že nedošlo ku kontaminácii baktériami, hubami alebo kvasinkami, bunkové kultúry sa denne vizuálne kontrolujú.