

Клетки PIEC | 305213

Обща информация

Description

PIEC (Porcine Iliac Endothelial Cells) е спонтанно безсмъртна ендотелиална клетъчна линия, получена от ендотелиума на илиачната артерия на младо прасе. Клетъчната линия проявява типична морфология на калдъръм, когато се разраства до конfluентност, и образува адхезивни монослоеове при стандартни условия на култивиране. PIEC запазват ключови ендотелиални характеристики, включително контактна инхибиция, експресия на ендотелиални маркери като фактор фон Вилебранд (vWF) и способността да образуват капилярни структури в подходящи *in vitro* тестове. Поради своя съдов произход, PIEC се използват широко като модел за изучаване на биологията на свинския ендотелиум и взаимодействията между гостоприемник и патоген.

Функционално PIEC проявяват характеристики, съответстващи на макросъдовите ендотелни клетки, включително реактивност към възпалителни стимули и способност да експресират адхезивни молекули, участващи в набирането на левкоцити. Те са широко използвани във вирусологичните изследвания, особено за разпространението и изучаването на свински вируси като вируса на класическата чума по свинете (CSFV), вируса на африканската чума по свинете (ASFV) и вируса на репродуктивно-респираторния синдром по свинете (PRRSV). Тяхната висока податливост към определени вирусни инфекции и стабилни характеристики на растеж ги правят ценна *in vitro* система за изследвания на вирусната репликация, антивирусно скриниране и изследвания на ваксини.

Освен приложенията в областта на инфекциозните заболявания, PIEC служат като подходящ ендотелиален модел на едри животни за изследване на функцията на съдовата бариера, ендотелиалната активация, ангиогенезата и възпалителните сигнални пътища. Като ендотелиална линия, получена от свине, PIEC осигуряват транслационна релевантност за сравнителни сърдечно-съдови изследвания и предклинични проучвания, при които често се използват модели на свине.

Organism Свиня

Tissue Съдов ендотел

Характеристики

Morphology Епителиален

Growth properties Придържащи се

Регулаторни данни

Citation PIEC (каталожен номер 305213 на Cytion)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9823

Клетки PIEC | 305213

CellosaurusAccession CVCL_C0W5

Биомолекулярни данни

Работа с

Culture Medium RPMI 1640, w: 2,0 mM стабилен глутамин, w: 2,0 g/L NaHCO₃ (номер на статията в Cytion 820700a)

Supplements Допълнете средата с топлинно активиран 10% FBS

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Отстранете старата среда от адхезивните клетки и ги промийте с PBS, която не съдържа калций и магнезий. За колби T25 използвайте 3-5 ml PBS, а за колби T75 - 5-10 ml. След това покрийте клетките изцяло с Accutase, като използвате 1-2 ml за колби T25 и 2,5 ml за колби T75. Оставете клетките да се инкубират на стайна температура за 8-10 минути, за да се отделят. След инкубацията внимателно разбъркайте клетките с 10 ml среда, за да ги ресуспендирате, след което центрофугирайте при 300xg за 3 минути. Изхвърлете супернатантата, ресуспендирайте клетките в прясна среда и ги прехвърлете в нови колби, които вече съдържат прясна среда.

Split ratio от 1:2 до 1:4

Fluid renewal 2 до 3 пъти седмично

Freeze medium Като среда за криоконсервация използвайте пълна среда за растеж (включително FBS) + 10% DMSO за адекватна жизнеспособност след размразяване или CM-1 (каталожен номер 800100 на Cytion), която включва оптимизирани осмопротектори и метаболитни стабилизатори за подобряване на възстановяването и намаляване на криоиндуцирания стрес.

Клетки PIEC | 305213

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Уверете се, че флаконът остава дълбоко замразен при доставката, тъй като клетките се транспортират със сух лед, за да се поддържат оптимални температури по време на транспортирането.
2. При получаване или съхранявайте незабавно криовиолата при температури под $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, за да осигурите запазване на клетъчната цялост, или преминете към стъпка 3, ако е необходимо незабавно култивиране.
3. За незабавно култивиране бързо размразете флакона, като го потопите във водна баня с чиста вода и антимикробен агент с температура $37\text{ }^{\circ}\text{C}$, като разбърквате внимателно в продължение на 40-60 секунди, докато остане малка ледена бучка.
4. Извършвайте всички следващи стъпки при стерилни условия в аспиратор, като преди отваряне дезинфекцирате криовиолата със 70% етанол.
5. Внимателно отворете дезинфекцирания флакон и прехвърлете клетъчната суспензия в 15 ml центрофужна епруветка, съдържаща 8 ml хранителна среда със стайна температура, като разбърквате внимателно.
6. Центрофугирайте сместа при 300 x g в продължение на 3 минути, за да отделите клетките, и внимателно изхвърлете супернатантата, съдържаща остатъчна замразяваща среда.
7. Внимателно ресуспендирайте клетъчната пелета в 10 ml прясна хранителна среда. За адхезивни клетки разделете суспензията между две колби T25; за суспензионни култури прехвърлете цялата среда в една колба T25, за да стимулирате ефективното взаимодействие и растеж на клетките.
8. Придържайте се към установените протоколи за субкултивиране за непрекъснат растеж и поддържане на клетъчната линия, като гарантирате надеждни експериментални резултати.

**Incubation
Atmosphere**

37°C , 5% CO_2 , овлажнена атмосфера.

Flask Coating

За оптимално прикрепване и жизнеспособност след размразяване препоръчваме да се използват **колби или плаки с колагеново покритие**.

**Freezing
Procedure**

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

Клетки P1EC | 305213

Shipping Conditions

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително -78°C по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

Storage Conditions

За дълготрайно съхранение поставете флаконите в течен азот в парна фаза при температура около -150 до -196°C . Съхранението при -80°C е приемливо само като кратък междинен етап преди прехвърлянето в течен азот.

Контрол на качеството / Генетичен профил / HLA

Sterility

Замърсяването с микоплазма се изключва както чрез PCR-базирани анализи, така и чрез луминесцентни методи за откриване на микоплазма.

За да се гарантира, че няма бактериално, гъбично или дрождево замърсяване, клетъчните култури се подлагат на ежедневни визуални проверки.