

PIEC rakud | 305213

Üldine teave

Description

PIEC (Porcine Iliac Endothelial Cells) on spontaanselt immortaliseeritud endoteelirakkude liin, mis on saadud noore sea niudearteri endoteelist. Rakuliinil on tüüpiline munakivimorfoloogia, kui see kasvab konfluentsini, ja moodustab standardse kultiveerimise tingimustes adhesiivseid monokihte. PIEC-rakud säilitavad peamised endoteeli omadused, sealhulgas kontakti inhibeerimise, endoteeli markerite (nt von Willebrandi faktor (vWF)) ekspressiooni ja võime moodustada kapillaaritaolisi struktuure sobivates in vitro testides. Oma vaskulaarse päritolu tõttu kasutatakse PIEC-rakke laialdaselt mudelina sigade endoteeli bioloogia ja peremees-patogeeni interaktsioonide uurimiseks.

Funktsionaalselt näitavad PIEC-id makrovaskulaarsete endoteelirakkudega sarnaseid omadusi, sealhulgas reageerivust põletikuliste stiimulitele ja võimet ekspresseerida leukotsüütide värbamisega seotud adhesiivmolekule. Neid on laialdaselt kasutatud viroloogilistes uuringutes, eriti sigade viiruste, nagu klassikalise sigade katku viiruse (CSFV), Aafrika sigade katku viiruse (ASFV) ja sigade reproduktiivse ja respiratoorse sündroomi viiruse (PRRSV) paljundamiseks ja uurimiseks. Nende kõrge vastuvõtlikkus teatud viirusnakkustele ja stabiilsed kasvutunnused muudavad need väärtuslikuks in vitro süsteemiks viirusreplikatsiooni uuringutes, viirusevastase skriiningu ja vaktsiiniuuringutes.

Lisaks nakkushaiguste rakendustele on PIEC-rakud asjakohane suurloomade endoteelirakkude mudel veresoonte barjäärifunktsiooni, endoteeli aktiveerumise, angiogeneesi ja põletikuliste signaalide edastamise uurimiseks. Seakasvatusest saadud endoteelirakkude liinina on PIEC-rakud asjakohased võrdlevate kardiovaskulaarsete uuringute ja prekliiniliste uuringute jaoks, kus tavaliselt kasutatakse seakasvatusemudeleid.

Organism Siga

Tissue Vaskulaarne endoteel

Omadused

Morphology Epiteel

Growth properties Kinnipeetav

Regulatiivsed andmed

Citation PIEC (Cytioni katalooginumbriga 305213)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9823

CellosaurusAccession CVCL_C0W5

PIEC rakud | 305213

Biomolekulaarsed andmed

Töötlemine

Culture MediumRPMI 1640, w: 2,0 mM stabiilne glutamiin, w: 2,0 g/L NaHCO₃ (Cytioni artikli number 820700a)**Supplements**

Täiendatakse keskkonda kuumuseliselt inaktiveeritud 10% FBS-iga

Dissociation Reagent

Accutase

Subculturing

Eemaldage kleepunud rakkudelt vana söötme ja peske neid PBS-ga, milles puudub kaltsium ja magneesium. T25 kolbide puhul kasutage 3-5 ml PBS-i ja T75 kolbide puhul 5-10 ml. Seejärel katke rakud täielikult Accutase'iga, kasutades 1-2 ml T25 kolbide puhul ja 2,5 ml T75 kolbide puhul. Laske rakkudel inkubeerida 8-10 minutit toatemperatuuril, et need eralduksid. Pärast inkubeerimist segage rakud ettevaatlikult 10 ml söötmega, et neid resuspenseerida, seejärel tsentrifugeerige 3 minutit 300xg juures. Visake supernatant ära, suspenseerige rakud uuesti värskes keskkonnas ja viige need uutesse kolvidesse, mis sisaldavad juba värsket keskkonda.

Split ratio

1:2 kuni 1:4

Fluid renewal

2 kuni 3 korda nädalas

Freeze medium

Krüosäilitusvedelikuna kasutage täielikku kasvukeskkonda (sh FBS) + 10% DMSO, et tagada piisav elujõulisus pärast sulatamist, või CM-1 (Cytioni katalooginumber 800100), mis sisaldab optimeeritud osmoprotektante ja metaboolseid stabilisaatoreid, et parandada taastumist ja vähendada krüostressi.

PIEC rakud | 305213

Thawing and Culturing Cells

1. Veenduge, et vial jääb tarnimisel sügavkülmutatud, sest rakud transporditakse kuiva jääga, et säilitada optimaalne temperatuur transpordi ajal.
2. Pärast kättesaamist säilitage krüoviaal kas kohe temperatuuril alla $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, et tagada rakkude terviklikkuse säilimine, või jätkake sammuga 3, kui on vaja koheselt kultiveerida.
3. Kohese kultiveerimise korral sulatage viali kiiresti, kastes selle $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ veevanni puhta vee ja antimikroobse ainega, segades seda õrnalt 40-60 sekundit, kuni alles jääb väike jääklomp.
4. Tehke kõik järgmised toimingud steriilsetes tingimustes vooluhoodis, desinfitseerides krüoviaal enne avamist 70% etanooliga.
5. Avage desinfitseeritud viali ettevaatlikult ja viige rakususpensioon ettevaatlikult segades 15 ml tsentrifuugitorusse, mis sisaldab 8 ml toatemperatuuril olevat kasvukeskkonda.
6. Rakkude eraldamiseks tsentrifuugige segu 300 x g juures 3 minutit ja visake ülejäänud külmutusvedelikku sisaldav supernatant ettevaatlikult ära.
7. Resuspendeerige rakupellet ettevaatlikult 10 ml värskes kasvukeskkonnas. Adhereerivate rakkude puhul jagage suspensioon kahe T25 kultuurkolvi vahel; suspensioonikultuuride puhul kandke kogu söötmekekkond ühte T25 kolbi, et soodustada rakkude tõhusat koostoimet ja kasvu.
8. Järgige kehtestatud subkultuuriprotokolle rakuliini jätkuvaks kasvuks ja säilitamiseks, tagades usaldusväärsed katsetulemused.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , niisutatud atmosfäär.

Flask Coating

Optimaalse kinnitumise ja elujõulisuse tagamiseks pärast sulatamist soovitame kasutada **kollageeniga kaetud koldeid või plaate**.

Freezing Procedure

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

Shipping Conditions

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

PIEC rakud | 305213

Storage Conditions

Pikaajaliseks säilitamiseks asetage viaalid aurufaasis vedela lämmastikuga umbes -150 kuni -196 °C juures. Säilitamine temperatuuril -80 °C on vastuvõetav ainult lühikese vaheetapina enne vedela lämmastikuga üleviimist.

Kvaliteedikontroll / Geneetiline profiil / HLA

Sterility

Mükoplasmakontaminatsioon on välistatud nii PCR-põhiste analüüside kui ka luminesentsil põhinevate mükoplasma tuvastamise meetodite abil.

Bakteriaalse, seene- või pärmsaaste puudumise tagamiseks kontrollitakse rakukultuure iga päev visuaalselt.