

PIEC-solut | 305213

Yleisiä tietoja

Description

PIEC (Porcine Iliac Endothelial Cells) on spontaanisti ikuistettu endoteelisolulinja, joka on peräisin nuoren sian suoliluun valtimon endoteelistä. Solulinja osoittaa tyypillistä mukulakivimorfologiaa kasvaessaan konfluenssiin ja muodostaa tarttuvia monokerroksia tavallisissa viljelyolosuhteissa. PIEC-solut säilyttävät keskeiset endoteelisolut ominaisuudet, kuten kontaktin eston, endoteelimarkkerien, kuten von Willebrandin tekijän (vWF), ilmentymisen ja kyvyn muodostaa kapillaarimaisia rakenteita sopivissa in vitro -määrityksissä. Verisuonten alkuperänsä vuoksi PIEC-soluja käytetään laajalti mallina sian endoteelisolujen biologian ja isäntä-patogeenin vuorovaikutusten tutkimuksessa.

Toiminnallisesti PIEC-solut osoittavat makrovaskulaaristen endoteelisolujen ominaisuuksia, mukaan lukien reagointikyky tulehdusärsykkeisiin ja kyky ilmentää leukosyyttien rekrytointiin osallistuvia adheesiomolekyyliä. Niitä on käytetty laajasti virologisessa tutkimuksessa, erityisesti sianvirusten, kuten klassisen sikaruton viruksen (CSFV), afrikkalaisen sikaruton viruksen (ASFV) ja sian lisääntymis- ja hengitystiesyndrooman viruksen (PRRSV), lisääntymiseen ja tutkimiseen. Niiden suuri alttius tietyille virusinfektioille ja vakaat kasvuominaisuudet tekevät niistä arvokkaan in vitro -järjestelmän virusreplikaatiotutkimuksiin, antiviraaliseen seulontaan ja rokotetutkimukseen.

Tartuntatautien sovellusten lisäksi PIEC-solut toimivat merkittävänä suurten eläinten endoteelimallina verisuonten estefunktion, endoteelin aktivaation, angiogeneesin ja tulehdussignaalireittien tutkimuksessa. Sioista peräisin olevana endoteelisolulinjana PIEC-solut tarjoavat translaationaalista merkitystä vertailukelpoisessa sydän- ja verisuonitutkimuksessa sekä prekliinisissä tutkimuksissa, joissa sian malleja käytetään yleisesti.

Organism Sika

Tissue Verisuonten endoteeli

Ominaisuudet

Morphology Epiteeli

Growth properties Tarttuva

Sääntelytiedot

Citation PIEC (Cytionin luettelonumero 305213)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9823

CellosaurusAccession CVCL_C0W5

PIEC-solut | 305213

Biomolekyylitiedot

Käsittely

Culture MediumRPMI 1640, w: 2,0 mM stabiilia glutamiinia, w: 2,0 g/L NaHCO₃ (Cytionin artikkelinumero 820700a)**Supplements**

Täydennetään elatusainetta lämpöinaktivoidulla 10 %:lla FBS:llä

Dissociation Reagent

Accutase

Subculturing

Poista vanha väliaine tarttuneista soluista ja pese ne PBS:llä, josta puuttuu kalsiumia ja magnesiumia. Käytä T25-pulloissa 3-5 ml PBS:ää ja T75-pulloissa 5-10 ml. Peitä sitten solut kokonaan Accutase-valmisteella, käyttäen 1-2 ml T25-pulloissa ja 2,5 ml T75-pulloissa. Anna solujen inkuboitua huoneenlämmössä 8-10 minuuttia solujen irtoamiseksi. Inkuboinnin jälkeen solut sekoitetaan varovasti 10 ml:n väliaineella niiden resuspendoimiseksi ja sentrifugoidaan sitten 300xg:n nopeudella 3 minuutin ajan. Hävitä supernatantti, suspendoi solut uudelleen tuoreessa väliaineessa ja siirrä ne uusiin pulloihin, jotka sisältävät jo tuoretta väliaineita.

Split ratio

1:2 – 1:4

Fluid renewal

2-3 kertaa viikossa

Freeze medium

Käytä kryosäilytysmediaana täydellistä kasvualustaa (mukaan lukien FBS) + 10 % DMSO:ta riittävän sulatuksen jälkeisen elinkelpoisuuden saavuttamiseksi tai CM-1:tä (Cytionin luettelonumero 800100), joka sisältää optimoituja osmoprotektantteja ja metabolisia stabilisaattoreita, jotka parantavat elpymistä ja vähentävät kryon aiheuttamaa stressiä.

PIEC-solut | 305213

Thawing and Culturing Cells

1. Varmista, että injektiopullo pysyy syväjäädytettynä toimitettaessa, sillä solut kuljetetaan kuivajäässä, jotta optimaalinen lämpötila säilyy kuljetuksen aikana.
2. Vastaanottaessa kryopullo joko säilytetään välittömästi alle -150 °C:n lämpötilassa solujen eheyden säilyttämiseksi tai edetään vaiheeseen 3, jos tarvitaan välitöntä viljelyä.
3. Välitöntä viljelyä varten sulata injektiopullo nopeasti upottamalla se 37 °C:n vesihauteeseen, jossa on puhdasta vettä ja antimikrobista ainetta, ja sekoittamalla sitä varovasti 40-60 sekunnin ajan, kunnes jäästä on jäljellä pieni jäämöhkäle.
4. Suorita kaikki seuraavat vaiheet steriileissä olosuhteissa virtaushupussa ja desinfioi kryopullo 70-prosenttisellä etanolilla ennen avaamista.
5. Avaa desinfioitu injektiopullo varovasti ja siirrä solususpensio 15 ml:n sentrifugiputkeen, joka sisältää 8 ml huoneenlämpöistä elatusainetta, varovasti sekoittaen.
6. Sentrifugoi seosta 300 x g:n voimakkuudella 3 minuutin ajan solujen erottamiseksi ja hävitä varovasti supernatantti, joka sisältää jäännöspakastusmediumia.
7. Suspendoidaan solupelletti varovasti uudelleen 10 ml:aan tuoretta elatusainetta. Jos solut ovat tarttuvia, jaa suspensio kahden T25-kolvin kesken; jos kyseessä ovat suspensioviljelmät, siirrä kaikki väliaine yhteen T25-kolviin solujen tehokkaan vuorovaikutuksen ja kasvun edistämiseksi.
8. Noudata vakiintuneita aliviljelyprotokollia solulinjan jatkuvan kasvun ja ylläpidon varmistamiseksi ja luotettavien kokeellisten tulosten varmistamiseksi.

Incubation Atmosphere

37 °C, 5 % CO_2 , kostutettu ilmakehä.

Flask Coating

Optimaalisen kiinnittymisen ja elinkelpoisuuden saavuttamiseksi sulatuksen jälkeen suosittelemme **kollageenipinnoitettujen pullojen tai levyjen** käyttöä.

Freezing Procedure

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäässä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

PIEC-solut | 305213

Shipping Conditions

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäissä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

Storage Conditions

Pitkäaikaisäilytystä varten injektiopullot asetetaan höyryfaasissa olevaan nestemäiseen tyypeen noin -150 - -196 °C:een. Säilytys -80 °C:ssa on hyväksyttävää vain lyhyenä välivaiheena ennen siirtoa nestemäiseen tyypeen.

Laadunvalvonta / Geneettinen profiili / HLA

Sterility

Mykoplasmakontaminaatio suljetaan pois sekä PCR-pohjaisilla määrityksillä että luminesenssiin perustuvilla mykoplasman osoitusmenetelmillä.

Bakteeri-, sieni- tai hiivakontaminaation välttämiseksi soluviljelmät tarkastetaan päivittäin silmämääräisesti.