

PIEC ląstelės | 305213

Bendra informacija

Description

PIEC (kiaulių klubo endotelio ląstelės) yra spontaniškai nemirtingos endotelio ląstelių linija, gauta iš jaunos kiaulės klubo arterijos endotelio. Ląstelių linija, augdama iki konfluencijos, pasižymi tipine akmenimis grįsto paviršiaus morfologija ir standartinėmis kultivavimo sąlygomis sudaro adhezyvinius monosluoksnius. PIEC išlaiko pagrindines endotelio savybes, įskaitant kontaktinį slopinimą, endotelio žymenų, pvz., von Willebrand faktoriaus (vWF), ekspresiją ir gebėjimą formuoti kapiliarinės struktūros atitinkamuose in vitro tyrimuose. Dėl savo kraujagyslinės kilmės PIEC plačiai naudojamos kaip modelis kiaulių endotelio biologijos ir šeiminkopatogeno sąveikos tyrimams.

Funkciniu požiūriu PIEC pasižymi savybėmis, būdingomis makrovaskuliniams endotelio ląstelėms, įskaitant jautrumą uždegiminiams dirgikliams ir gebėjimą ekspresuoti adhezijos molekules, dalyvaujančias leukocitų rekrutacijoje. Jos plačiai naudojamos virusologijos tyrimuose, ypač kiaulių virusų, tokių kaip klasikinio kiaulių maro virusas (CSFV), afrikinio kiaulių maro virusas (ASFV) ir kiaulių reprodukcinio ir respiratorinio sindromo virusas (PRRSV), dauginimui ir tyrimams. Dėl didelio atsparumo tam tikroms virusinėms infekcijoms ir stabilių augimo savybių jos yra vertinga in vitro sistema virusų replikacijos tyrimams, antivirusinių preparatų atrankai ir vakcinų tyrimams.

Be infekcinių ligų tyrimų, PIEC yra tinkamas didelių gyvūnų endotelio modelis kraujagyslių barjero funkcijos, endotelio aktyvacijos, angiogenezės ir uždegiminių signalų perdavimo kelių tyrimams. Kaip kiaulių endotelio linija, PIEC yra tinkami lyginamiesiems širdies ir kraujagyslių tyrimams bei ikiklinikiniams tyrimams, kuriuose dažnai naudojami kiaulių modeliai.

Organism Kiaulė

Tissue Kraujagyslių endotelis

Charakteristikos

Morphology Epitelis

Growth properties Priglundęs

Reguliavimo duomenys

Citation PIEC (Cytion katalogo numeris 305213)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9823

CellosaurusAccession CVCL_C0W5

PIEC ląstelės | 305213

Biomolekuliniai duomenys

Tvarkymas

Culture MediumRPMI 1640, š: 2,0 mM stabilus glutaminas, š: 2,0 g/L NaHCO₃ (Cytion gaminio numeris 820700a)**Supplements**

Papildykite terpę šiluma inaktyvuotu 10 % FBS

Dissociation Reagent

Accutase

Subculturing

Pašalinkite seną terpę nuo prilipusių ląstelių ir nuplaukite jas PBS, kuriame nėra kalcio ir magnio. T25 kolboms naudokite 3-5 ml PBS, o T75 kolboms - 5-10 ml. Tuomet visiškai užpilkite ląsteles "Accutase", naudodami 1-2 ml T25 kolboms ir 2,5 ml T75 kolboms. Leiskite ląstelėms inkubuotis kambario temperatūroje 8-10 minučių, kad jos atsiskirtų. Po inkubacijos atsargiai sumaišykite ląsteles su 10 ml terpės, kad jos vėl suspenduotų, tada 3 minutes centrifuguokite 300xg greičiu. Išmeskite supernatantą, vėl sutirpinkite ląsteles šviežioje terpėje ir perkelkite jas į naujas kolbas, kuriose jau yra šviežia terpė.

Split ratio

nuo 1:2 iki 1:4

Fluid renewal

2-3 kartus per savaitę

Freeze medium

Kaip kriokonservavimo terpę naudokite visavertę augimo terpę (įskaitant FBS) + 10 % DMSO, kad būtų užtikrintas tinkamas gyvybingumas po atšildymo, arba CM-1 (Cytion katalogo numeris 800100), kurioje yra optimizuotų osmoprotektorių ir medžiagų apykaitos stabilizatorių, kad būtų pagerintas atsigavimas ir sumažintas kriokonservavimo sukeltas stresas.

PIEC ląstelės | 305213

Thawing and Culturing Cells

1. Patikrinkite, ar pristatant buteliuką jis išlieka gerai užšaldytas, nes ląstelės gabenamos ant sauso ledo, kad gabenimo metu būtų palaikoma optimali temperatūra.
2. Gavę iš karto laikykite kriovialą žemesnėje nei -150°C temperatūroje, kad užtikrintumėte ląstelių vientisumo išsaugojimą, arba pereikite prie 3 veiksmo, jei reikia nedelsiant kultivuoti.
3. Jei norite nedelsiant pradėti kultivuoti, greitai atšildykite buteliuką panardindami jį į 37°C temperatūros vandens vonelę su švariu vandeniu ir antimikrobine priemone, švelniai maišydami 40-60 sekundžių, kol liks nedidelis ledo gabalėlis.
4. Visus tolesnius veiksmus atlikite steriliomis sąlygomis srauto gaubte, prieš atidarydami kriovialą dezinfekuokite jį 70 % etanoliu.
5. Atsargiai atidarykite dezinfekuotą buteliuką ir perpilkite ląstelių suspensiją į 15 ml centrifugos mėgintuvėlį, kuriame yra 8 ml kambario temperatūros mitybinės terpės, atsargiai išmaišykite.
6. Mišinį centrifuguokite 300 x g greičiu 3 minutes, kad atsiskirtų ląstelės, ir atsargiai išmeskite supernatantą su šaldymo terpės likučiais.
7. Švelniai resuspenduokite ląstelių granules 10 ml šviežios mitybinės terpės. Jei ląstelės yra prigludusios, suspensiją padalykite į dvi T25 kolbas; jei tai suspensinės kultūros, visą terpę perkelkite į vieną T25 kolbą, kad paskatintumėte veiksmingą ląstelių sąveiką ir augimą.
8. Laikykitės nustatytų subkultūrų protokolų, kad ląstelių linija nuolat augtų ir būtų palaikoma, taip užtikrinant patikimus eksperimentų rezultatus.

Incubation Atmosphere

37°C , 5 % CO_2 , drėkintoje atmosferoje.

Flask Coating

Kad po atšildymo būtų užtikrintas optimalus prisitvirtinimas ir gyvybingumas, rekomenduojame naudoti **kolagenu dengtas kolbas arba plokšteles**.

Freezing Procedure

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug -78°C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelkite mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

PIEC ląstelės | 305213

Shipping Conditions

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelkite mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

Storage Conditions

Norėdami ilgai saugoti, įdėkite buteliukus į garų fazės skystą azotą maždaug $-150\text{--}196\text{ }^{\circ}\text{C}$ temperatūroje. Laikymas $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ temperatūroje yra priimtinas tik kaip trumpas tarpinis etapas prieš perkeliant į skystąjį azotą.

Kokybės kontrolė / Genetinis profilis / HLA

Sterility

Mikoplazmos užterštumas atmetamas taikant PGR pagrįstus tyrimus ir liuminescencinius mikoplazmos aptikimo metodus.

Siekiant užtikrinti, kad nebūtų užteršimo bakterijomis, grybeliais ar mielėmis, ląstelių kultūros kasdien vizualiai tikrinamos.