

PIEC šūnas | 305213

Vispārīga informācija

Description

PIEC (cūku iegurņa endotēlija šūnas) ir spontāni imortalizēta endotēlija šūnu līnija, kas iegūta no jaunas cūkas iegurņa artērijas endotēlija. Šūnu līnija, augot līdz konfluencei, uzrāda tipisku bruģakmens morfoloģiju un standarta kultivēšanas apstākļos veido adhezīvas monoslāņus. PIEC saglabā galvenās endotēlija īpašības, tostarp kontakta inhibīciju, endotēlija marķieru, piemēram, von Willebrand faktora (vWF), ekspresiju un spēju veidot kapilāru līdzīgas struktūras atbilstošos in vitro testos. Savas asinsvadu izcelsmes dēļ PIEC plaši izmanto kā modeli cūku endotēlija bioloģijas un saimnieka-patogēna mijiedarbības pētījumiem.

Funkcionāli PIEC uzrāda pazīmes, kas atbilst makrovaskulārajām endotēlija šūnām, tostarp reaģētspēju uz iekaisuma stimuliem un spēju ekspresēt adhezijas molekulas, kas iesaistītas leikocītu rekrutēšanā. Tās ir plaši izmantotas viroloģijas pētījumos, jo īpaši cūku vīrusu, piemēram, klasiskā cūku mēra vīrusa (CSFV), Āfrikas cūku mēra vīrusa (ASFV) un cūku reproduktīvā un respiratorā sindroma vīrusa (PRRSV), pavairošanai un pētīšanai. To augstā uzņēmība pret noteiktām vīrusu infekcijām un stabilās augšanas īpašības padara tās par vērtīgu in vitro sistēmu vīrusu replikācijas pētījumiem, pretvīrusu skrīningam un vakcīnu pētījumiem.

Papildus infekcijas slimību pētījumiem PIEC kalpo kā atbilstošs lielu dzīvnieku endotēlija modelis asinsvadu barjeras funkcijas, endotēlija aktivācijas, angiogēnēzes un iekaisuma signālu ceļu pētījumiem. Kā cūku izcelsmes endotēlija līnija PIEC nodrošina translātīvo nozīmi salīdzinošajos kardiovaskulārajos pētījumos un pirmsklīniskajos pētījumos, kuros parasti izmanto cūku modeļus.

Organism Cūka

Tissue Asinsvadu endotēlijs

Raksturojums

Morphology Epitēlija

Growth properties Adherent

Normatīvie dati

Citation PIEC (Cytion kataloga numurs 305213)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9823

CellosaurusAccession CVCL_C0W5

Biomolekulārie dati

PIEC šūnas | 305213

Darbs ar

Culture MediumRPMI 1640, w: 2,0 mM stabils glutamīns, w: 2,0 g/L NaHCO₃ (Cytion izstrādājuma numurs 820700a)**Supplements**

Papildiniet barotni ar termiski inaktivētu 10% FBS

Dissociation Reagent

Accutase

Subculturing

Noņemt veco barotni no pielipušajām šūnām un mazgāt tās ar PBS, kurā nav kalcija un magnija. T25 kolbām izmantojiet 3-5 ml PBS, bet T75 kolbām - 5-10 ml. Pēc tam pilnībā pārklājiet šūnas ar Accutase, izmantojot 1-2 ml T25 kolbām un 2,5 ml T75 kolbām. Ļaujiet šūnām inkubēties istabas temperatūrā 8-10 minūtes, lai tās atdalītos. Pēc inkubācijas uzmanīgi samaisiet šūnas ar 10 ml barotnes, lai tās atkārtoti suspendētu, pēc tam centrifugējiet 3 minūtes ar 300xg. Izmetiet supernatantu, atkārtoti suspendējiet šūnas svaigā barotnē un pārvietojiet tās jaunās kolbās, kurās jau ir svaiga barotne.

Split ratio

no 1:2 līdz 1:4

Fluid renewal

2 līdz 3 reizes nedēļā

Freeze medium

Kā kriokonservēšanas barotni izmantojiet pilnvērtīgu augšanas barotni (ieskaitot FBS) + 10 % DMSO, lai nodrošinātu pietiekamu dzīvotspēju pēc atkausēšanas, vai CM-1 (Cytion kataloga numurs 800100), kas ietver optimizētus osmoprotektorus un metaboliskos stabilizatorus, lai uzlabotu reģenerāciju un samazinātu krioinducēto stresu.

PIEC šūnas | 305213

Thawing and Culturing Cells

1. Pārliecinieties, ka pēc piegādes flakons paliek dziļi sasaldēts, jo šūnas tiek sūtītas uz sausā ledus, lai pārvadāšanas laikā saglabātu optimālu temperatūru.
2. Pēc saņemšanas vai nu nekavējoties uzglabāt kriovialu temperatūrā, kas zemāka par -150 °C, lai nodrošinātu šūnu integritātes saglabāšanu, vai arī turpināt 3. posmu, ja nepieciešama tūlītēja kultivēšana.
3. Tūlītējas kultivēšanas gadījumā ātri atkausējiet flakonu, iegremdējot to 37°C ūdens vannā ar tīru ūdeni un antibakteriālu līdzekli, viegli maisot 40-60 sekundes, līdz paliek neliels ledus gabaliņš.
4. Visas turpmākās darbības veiciet sterilos apstākļos plūsmas nosūcējā, pirms atvēršanas dezinficējot kriovialu ar 70% etanolu.
5. Uzmanīgi atveriet dezinficēto flakonu un pārnesiet šūnu suspensiju 15 ml centrifūgas mēģenē, kurā ir 8 ml istabas temperatūras barotnes, uzmanīgi samaisot.
6. Centrifugējiet maisījumu ar 300 x g 3 minūtes, lai atdalītu šūnas, un uzmanīgi izmetiet virskārtu, kas satur saldēšanas barotnes atlikumus.
7. Viegli resuspendēt šūnu granulas 10 ml svaigas barotnes. Adhēzijas šūnu gadījumā suspensiju sadalīt divās T25 kolbās; suspensijas kultūrām visu barotni pārnest vienā T25 kolbā, lai veicinātu efektīvu šūnu mijiedarbību un augšanu.
8. Ievērojiet noteiktos subkultūru protokolus, lai nodrošinātu nepārtrauktu šūnu līnijas augšanu un uzturēšanu, tādējādi nodrošinot uzticamus eksperimentu rezultātus.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO_2 , mitrināta atmosfēra.

Flask Coating

Optimālai piestiprināšanai un dzīvotspējai pēc atkausēšanas ieteicams izmantot **ar kolagēnu pārklātas kolbas vai plates**.

Freezing Procedure

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidrums daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

PIEC šūnas | 305213

Shipping Conditions

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidrums daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

Storage Conditions

Ilgstošai uzglabāšanai flakonus ievietojiet šķidrā slāpekļī ar tvaika fāzi aptuveni -150 līdz -196 °C temperatūrā. Uzglabāšana -80 °C temperatūrā ir pieļaujama tikai kā īss starposms pirms pārvietošanas uz šķidro slāpekli.

Kvalitātes kontrole / Ģenētiskais profils / HLA

Sterility

Mikoplazmas piesārņojums tiek izslēgts, izmantojot gan uz PCR balstītus testus, gan uz luminiscenci balstītas mikoplazmas noteikšanas metodes.

Lai pārlicinātos, ka nav baktēriju, sēnīšu vai rauga piesārņojuma, šūnu kultūras katru dienu vizuāli pārbauda.