

Komórki PIEC | 305213**Informacje ogólne****Description**

PIEC (komórki śródbłonna tętnicy biodrowej świni) to spontanicznie uwieczniona linia komórek śródbłonna pochodząca ze śródbłonna tętnicy biodrowej młodej świni. Linia komórkowa wykazuje typową morfologię kostki brukowej po osiągnięciu konfluencji i tworzy przylegające monowarstwy w standardowych warunkach hodowli. Komórki PIEC zachowują kluczowe cechy śródbłonna, w tym hamowanie kontaktowe, ekspresję markerów śródbłonna, takich jak czynnik von Willebranda (vWF), oraz zdolność do tworzenia struktur podobnych do naczyń włosowatych w odpowiednich testach in vitro. Ze względu na swoje naczyniowe pochodzenie komórki PIEC są szeroko stosowane jako model do badania biologii śródbłonna świń oraz interakcji między gospodarzem a patogenem.

Pod względem funkcjonalnym PIEC wykazują cechy zgodne z komórkami śródbłonna makronaczyniowego, w tym reaktywność na bodźce zapalne i zdolność do ekspresji cząsteczek adhezyjnych biorących udział w rekrutacji leukocytów. Są one szeroko wykorzystywane w badaniach wirusologicznych, szczególnie do namnażania i badania wirusów świń, takich jak wirus klasycznego pomoru świń (CSFV), wirus afrykańskiego pomoru świń (ASFV) oraz wirus zespołu rozrodzco-oddechowego świń (PRRSV). Ich wysoka podatność na niektóre infekcje wirusowe i stabilne właściwości wzrostu sprawiają, że są one cennym systemem in vitro do badań replikacji wirusów, badań przesiewowych leków przeciwwirusowych i badań nad szczepionkami.

Oprócz zastosowań w chorobach zakaźnych, PIEC służą jako odpowiedni model śródbłonna dużych zwierząt do badania funkcji bariery naczyniowej, aktywacji śródbłonna, angiogenezy i szlaków sygnałowych zapalenia. Jako linia śródbłonna pochodząca od świń, PIEC zapewniają znaczenie translacyjne dla porównawczych badań sercowo-naczyniowych i badań przedklinicznych, w których powszechnie stosuje się modele świńskie.

Organism Świnia**Tissue** Śródbłonek naczyniowy**Charakterystyka****Morphology** Nabłonek**Growth properties** Adherent**Dane regulacyjne****Citation** PIEC (numer katalogowy Cytion 305213)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9823**CellosaurusAccession** CVCL_C0W5

Komórki PIEC | 305213

Dane biomolekularne

Obsługa

Culture MediumRPMI 1640, w: 2,0 mM stabilnej glutaminy, w: 2,0 g/L NaHCO₃ (numer artykułu Cytion 820700a)**Supplements**

Uzupełnić podłoże o inaktywowany termicznie 10% FBS

Dissociation Reagent

Accutase

Subculturing

Usuń starą pożywkę z przylegających komórek i przemyj je PBS, który nie zawiera wapnia i magnezu. W przypadku kolb T25 należy użyć 3-5 ml PBS, a w przypadku kolb T75 5-10 ml. Następnie całkowicie pokryj komórki Accutase, używając 1-2 ml dla kolb T25 i 2,5 ml dla kolb T75. Pozwól komórkom inkubować w temperaturze pokojowej przez 8-10 minut, aby je oddzielić. Po inkubacji delikatnie wymieszaj komórki z 10 ml pożywki, aby ponownie je zawiesić, a następnie odwiruj przy 300xg przez 3 minuty. Odrzucić supernatant, ponownie zawiesić komórki w świeżej pożywce i przenieść je do nowych kolb zawierających już świeżą pożywkę.

Split ratio

1:2 do 1:4

Fluid renewal

2 do 3 razy w tygodniu

Freeze medium

Jako pożywkę do kriokonserwacji należy stosować kompletną pożywkę wzrostową (w tym FBS) + 10% DMSO w celu zapewnienia odpowiedniej żywotności po rozmrożeniu lub CM-1 (numer katalogowy Cytion 800100), która zawiera zoptymalizowane osmoprotektanty i stabilizatory metaboliczne w celu zwiększenia regeneracji i zmniejszenia stresu wywołanego kriokonserwacją.

Komórki PIEC | 305213

Thawing and Culturing Cells

1. Upewnij się, że fiolka pozostaje głęboko zamrożona w momencie dostawy, ponieważ komórki są wysyłane w suchym lodzie, aby utrzymać optymalną temperaturę podczas transportu.
2. Po otrzymaniu należy natychmiast przechowywać fiolkę w temperaturze poniżej -150°C , aby zapewnić zachowanie integralności komórek, lub przejść do kroku 3, jeśli wymagana jest natychmiastowa hodowla.
3. W przypadku natychmiastowej hodowli należy szybko rozmrozić fiolkę, zanurzając ją w łaźni wodnej o temperaturze 37°C z czystą wodą i środkiem przeciwdrobnoustrojowym, delikatnie mieszając przez 40-60 sekund, aż pozostanie niewielka grudka lodu.
4. Wykonaj wszystkie kolejne kroki w sterylnych warunkach w kapturze przepływowej, dezynfekując fiolkę 70% etanolem przed otwarciem.
5. Ostrożnie otworzyć zdezynfekowaną fiolkę i przenieść zawiesinę komórek do 15 ml probówki wirówkowej zawierającej 8 ml podłoża hodowlanego o temperaturze pokojowej, delikatnie mieszając.
6. Wirować mieszaninę z prędkością $300 \times g$ przez 3 minuty w celu oddzielenia komórek i ostrożnie odrzucić supernatant zawierający pozostałości pożywki do zamrażania.
7. Delikatnie ponownie zawiesić osad komórek w 10 ml świeżego podłoża hodowlanego. W przypadku komórek przylegających, rozdzielić zawiesinę pomiędzy dwie kolby hodowlane T25; w przypadku hodowli zawieszonych, przenieść całą pożywkę do jednej kolby T25 w celu promowania skutecznej interakcji i wzrostu komórek.
8. Przestrzegaj ustalonych protokołów podhodowli w celu ciągłego wzrostu i utrzymania linii komórkowej, zapewniając wiarygodne wyniki eksperymentów.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , nawilżona atmosfera.

Flask Coating

W celu zapewnienia optymalnego przylegania i żywotności po rozmrożeniu zalecamy stosowanie **kolb lub płytek pokrytych kolagenem**.

Freezing Procedure

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolkę do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Komórki PIEC | 305213

Shipping Conditions

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiołki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Storage Conditions

W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiołki w ciekłym azocie w fazie lotnej w temperaturze od -150 do -196 °C. Przechowywanie w temperaturze -80 °C jest dopuszczalne tylko jako krótki etap przejściowy przed przeniesieniem do ciekłego azotu.

Kontrola jakości / Profil genetyczny / HLA

Sterility

Zanieczyszczenie mykoplazmą jest wykluczane przy użyciu zarówno testów opartych na PCR, jak i metod wykrywania mykoplazmy opartych na luminescencji.

Aby upewnić się, że nie ma zanieczyszczenia bakteriami, grzybami lub drożdżami, hodowle komórkowe są poddawane codziennym kontrolom wizualnym.