

Celice PIEC | 305213

Splošne informacije

Description

PIEC (Porcine Iliac Endothelial Cells) je spontano nesmrtena linija endotelnih celic, pridobljena iz endotelija iliakalne arterije mladega prašiča. Linija celic ima tipično morfologijo tlakovcev, ko zraste do konfluente, in ob standardnih pogojih gojenja tvori adhezivne monosloje. PIEC ohranjajo ključne endotelne lastnosti, vključno s kontaktno inhibicijo, izražanjem endotelnih markerjev, kot je von Willebrandov faktor (vWF), in sposobnostjo oblikovanja kapilarnih struktur v ustreznih in vitro testih. Zaradi svojega vaskularnega izvora se PIEC pogosto uporabljajo kot model za preučevanje biologije prašičjega endotelija in interakcij med gostiteljem in patogenom.

Funkcionalno PIEC kažejo lastnosti, ki so skladne z makrovaskularnimi endotelijskimi celicami, vključno z odzivnostjo na vnetne dražljaje in sposobnostjo izražanja adhezijskih molekul, vpletenih v rekrutiranje levkocitov. So se široko uporabljale v viroloških raziskavah, zlasti za razmnoževanje in študij prašičjih virusov, kot so virus klasične prašičje kuge (CSFV), virus afriške prašičje kuge (ASFV) in virus reproduktivnega in respiratornega sindroma prašičev (PRRSV). Zaradi njihove visoke dovzetnosti za določene virusne okužbe in stabilnih rastnih značilnosti so dragocen in vitro sistem za študije virusne replikacije, protivirusno presejanje in raziskave cepiv.

Poleg uporabe pri nalezljivih boleznih PIEC služijo kot relevanten model endotelija velikih živali za preučevanje funkcije žilne pregrade, aktivacije endotelija, angiogeneze in vnetnih signalnih poti. Kot endotelijska linija, pridobljena iz prašičev, PIEC zagotavljajo translacijsko relevantnost za primerjalne kardiovaskularne raziskave in predklinične študije, kjer se pogosto uporabljajo prašičji modeli.

Organism Prašič

Tissue Žilni endotelij

Značilnosti

Morphology Epitelijski

Growth properties Pripadajoče

Regulativni podatki

Citation PIEC (Cytionova kataloška številka 305213)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9823

CellosaurusAccession CVCL_C0W5

Celice PIEC | 305213

Biomolekularni podatki

Ravnanje s spletno stranjo

Culture Medium RPMI 1640, w: 2,0 mM stabilnega glutamina, w: 2,0 g/L NaHCO₃ (številka izdelka Cytion 820700a)

Supplements Gojišče dopolnite s toplotno aktiviranim 10 % FBS

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Odstranite staro gojišče z adherentnih celic in jih sperite s PBS, ki ne vsebuje kalcija in magnezija. Za bučke T25 uporabite 3-5 ml PBS, za bučke T75 pa 5-10 ml. Nato celice popolnoma prekrijte z Accutase, pri čemer uporabite 1-2 ml za bučke T25 in 2,5 ml za bučke T75. Celice pustite inkubirati pri sobni temperaturi 8-10 minut, da se ločijo. Po inkubaciji celice nežno premešajte z 10 ml gojišča, da se ponovno suspendirajo, nato jih 3 minute centrifugirajte pri 300xg. Zavrzite supernatant, ponovno suspendirajte celice v svežem gojišču in jih prenesite v nove bučke, ki že vsebujejo sveže gojišče.

Split ratio 1:2 do 1:4

Fluid renewal 2 do 3-krat na teden

Freeze medium Kot gojišče za kriokonzervacijo uporabite popolno rastno gojišče (vključno s FBS) + 10 % DMSO za ustrezno vitalnost po odmrznitvi ali CM-1 (kataloška številka 800100 podjetja Cytion), ki vključuje optimizirane osmoprotektante in presnovne stabilizatorje za izboljšanje okrevanja in zmanjšanje stresa, povzročene s krio.

Celice PIEC | 305213

Thawing and Culturing Cells

1. Prepričajte se, da je viala ob dostavi globoko zamrznjena, saj se celice pošiljajo na suhem ledu, da se med prevozom ohranijo optimalne temperature.
2. Po prejemu krioviala takoj shranite pri temperaturi pod $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, da zagotovite ohranitev celične celovitosti, ali pa nadaljujte s korakom 3, če je potrebno takojšnje gojenje.
3. Za takojšnje gojenje vialo hitro odtalite tako, da jo potopite v vodno kopel s čisto vodo in protimikrobnim sredstvom pri $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ ter 40-60 sekund nežno mešate, dokler ne ostane majhen ledeni kepica.
4. Vse nadaljnje korake izvajajte v sterilnih pogojih v pretočni nape, pred odprtjem pa kriovial razkužite s 70 % etanolom.
5. Previdno odprite razkuženo vialo in celično suspenzijo prenesite v 15-mililitrsko centrifugirno epruveto, ki vsebuje 8 ml gojišča sobne temperature, ter nežno premešajte.
6. Mešanico centrifugirajte pri $300 \times g$ 3 minute, da ločite celice, in previdno zavržite supernatant, ki vsebuje ostanke zamrzovalnega gojišča.
7. Pelet celic nežno ponovno suspendirajte v 10 ml svežega gojišča. Pri adherentnih celicah suspenzijo razdelite med dve bučki T25; pri suspenzijskih kulturah prenesite vse gojišče v eno bučko T25, da spodbudite učinkovito interakcijo in rast celic.
8. Upoštevajte uveljavljene protokole subkultur za nadaljnjo rast in vzdrževanje celične linije ter tako zagotovite zanesljive rezultate poskusov.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5 % CO_2 , vlažno ozračje.

Flask Coating

Za optimalno pritrnitev in sposobnost preživetja po odmrznitvi priporočamo uporabo s **kolagenom prevlečenih bučk ali plošč**.

Freezing Procedure

Kriokonzervirane celične linije se pošiljajo na suhem ledu v potrjeni, izolirani embalaži z zadostno količino hladilnega sredstva, da se med prevozom vzdržuje približno $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Ob prejemu takoj preglejte embalažo in vialo nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.

Celice PIEC | 305213

Shipping Conditions

Kriokonzervirane celične linije se pošiljajo na suhem ledu v potrjeni, izolirani embalaži z zadostno količino hladilnega sredstva, da se med prevozom vzdržuje približno -78°C . Ob prejemu takoj preglejte embalažo in vialo nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.

Storage Conditions

Za dolgotrajno shranjevanje vialo postavite v tekoči dušik v parni fazi pri približno -150 do -196°C . Shranjevanje pri -80°C je sprejemljivo le kot kratek vmesni korak pred prenosom v tekoči dušik.

Nadzor kakovosti / Genetski profil / HLA

Sterility

Kontaminacija z mikoplazmo se izključi z uporabo testov na podlagi PCR in metod za odkrivanje mikoplazme na podlagi luminiscence.

Da se zagotovi, da ni kontaminacije z bakterijami, glivami ali kvasovkami, se celične kulture dnevno vizualno pregledujejo.