

PIEC-celler | 305213

Generel information

Description

PIEC (Porcine Iliac Endothelial Cells) er en spontant udødeliggjort endotelcellelinje, der stammer fra endotelet i iliacarterien hos et ungt svin. Cellelinjen udviser en typisk brostenmorfologi, når den dyrkes til konfluens, og danner adhærente monolag under standardkulturforhold. PIEC'er bevarer vigtige endotelkarakteristika, herunder kontakthibering, ekspresion af endotelmarkører såsom von Willebrand-faktor (vWF) og evnen til at danne kapillærlignende strukturer i passende in vitro-assays. På grund af deres vaskulære oprindelse anvendes PIEC'er i vid udstrækning som model til at studere svineendotelbiologi og vært-patogen-interaktioner.

Funktionelt udviser PIEC'er egenskaber, der er i overensstemmelse med makrovaskulære endotelceller, herunder reaktionsevne over for inflammatoriske stimuli og evnen til at udtrykke adhæsionsmolekyler, der er involveret i leukocytrekruttering. De er blevet udbredt anvendt i virologisk forskning, især til formering og undersøgelse af svinevirus såsom klassisk svinepestvirus (CSFV), afrikansk svinepestvirus (ASFV) og svine reproduktions- og respiratorisk syndromvirus (PRRSV). Deres høje tolerancetærskel over for visse virusinfektioner og stabile vækstegenskaber gør dem til et værdifuldt in vitro-system til virusreplikationsundersøgelser, antiviral screening og vaccineforskning.

Ud over anvendelser inden for infektionssygdomme fungerer PIEC'er som en relevant endotelmodel for store dyr til undersøgelse af vaskulær barrierefunktion, endotelaktivering, angiogenese og inflammatoriske signalveje. Som en endotelcelle fra svin giver PIEC'er translational relevans for komparativ kardiovaskulær forskning og prækliniske studier, hvor svinemodeller ofte anvendes.

Organism Gris

Tissue Vaskulært endotel

Karakteristika

Morphology Epitelial

Growth properties Vedhæftende

Regulatoriske data

Citation PIEC (Cytion katalognummer 305213)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9823

CellosaurusAccession CVCL_C0W5

PIEC-celler | 305213

Biomolekylære data

Håndtering

Culture MediumRPMI 1640, m: 2,0 mM stabil glutamin, m: 2,0 g/L NaHCO₃ (Cytion artikelnummer 820700a)**Supplements**

Suppler mediet med varmeinaktiveret 10% FBS

Dissociation Reagent

Accutase

Subculturing

Fjern det gamle medium fra de klæbende celler, og vask dem med PBS, der ikke indeholder calcium og magnesium. Brug 3-5 ml PBS til T25-kolber og 5-10 ml til T75-kolber. Dæk derefter cellerne helt med Accutase, brug 1-2 ml til T25-kolber og 2,5 ml til T75-kolber. Lad cellerne inkubere ved stuetemperatur i 8-10 minutter for at løsne dem. Efter inkubationen blandes cellerne forsigtigt med 10 ml medium for at resuspendere dem, og centrifugeres derefter ved 300xg i 3 minutter. Kassér supernatanten, resuspend cellerne i frisk medium, og overfør dem til nye kolber, der allerede indeholder frisk medium.

Split ratio

1:2 til 1:4

Fluid renewal

2 til 3 gange om ugen

Freeze medium

Som kryopræservationsmedium bruger vi komplet vækstmedium (inklusive FBS) + 10 % DMSO for tilstrækkelig levedygtighed efter optøning eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som indeholder optimerede osmoteskyttende stoffer og metaboliske stabilisatorer for at forbedre genopretningen og reducere kryo-induceret stress.

PIEC-celler | 305213

Thawing and Culturing Cells

1. Bekræft, at hætteglasset forbliver dybfrosset ved levering, da cellerne sendes på tøris for at opretholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved modtagelsen skal du enten straks opbevare kryohætteglasset ved temperaturer under $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ for at sikre, at cellernes integritet bevares, eller gå videre til trin 3, hvis øjeblikkelig dyrkning er påkrævet.
3. Ved øjeblikkelig dyrkning optøs hætteglasset hurtigt ved at nedsænke det i et $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ varmt vandbad med rent vand og et antimikrobielt middel og røre forsigtigt i 40-60 sekunder, indtil der kun er en lille isklump tilbage.
4. Udfør alle efterfølgende trin under sterile forhold i en flowhætte, og desinficer kryovialet med 70 % ethanol, før det åbnes.
5. Åbn forsigtigt det desinficerede hætteglas, og overfør cellesuspensionen til et 15 ml centrifugerør, der indeholder 8 ml kulturmedium ved stuetemperatur, og bland forsigtigt.
6. Centrifuger blandingen ved $300 \times g$ i 3 minutter for at adskille cellerne, og kassér omhyggeligt supernatanten, der indeholder resterende frysemedium.
7. Resuspender forsigtigt cellepelleten i 10 ml frisk dyrkningsmedium. For klæbende celler deles suspensionen mellem to T25-kulturkolber; for suspensionskulturer overføres alt mediet til en T25-kolbe for at fremme effektiv celleinteraktion og -vækst.
8. Overhold etablerede subkulturprotokoller for fortsat vækst og vedligeholdelse af cellelinjen, hvilket sikrer pålidelige eksperimentelle resultater.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , befugtet atmosfære.

Flask Coating

Ingen

Freezing Procedure

Kryopræservede cellelinjer sendes på tøris i valideret, isoleret emballage med tilstrækkeligt kølemiddel til at opretholde ca. $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hele transporten. Ved modtagelse skal beholderen straks inspiceres, og hætteglassene skal straks overføres til passende opbevaring.

Shipping Conditions

Kryopræservede cellelinjer sendes på tøris i valideret, isoleret emballage med tilstrækkeligt kølemiddel til at opretholde ca. $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hele transporten. Ved modtagelse skal beholderen straks inspiceres, og hætteglassene skal straks overføres til passende opbevaring.

PIEC-celler | 305213

Storage Conditions

For langtidsopbevaring anbringes hætteglas i flydende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Opbevaring ved -80 °C er kun acceptabelt som et kort mellemtrin før overførsel til flydende nitrogen.

Kvalitetskontrol / Genetisk profil / HLA

Sterility

Mycoplasma-kontaminering udelukkes ved hjælp af både PCR-baserede assays og luminescensbaserede mycoplasma-detektionsmetoder.

For at sikre, at der ikke er nogen bakterie-, svampe- eller gærforurening, underkastes cellekulturerne daglige visuelle inspektioner.