

PIEC-cellen | 305213

Algemene informatie

Description

PIEC (Porcine Iliac Endothelial Cells) is een spontaan geïmmortaliseerde endotheelcellijn afkomstig van het endotheel van de iliacaal slagader van een jong varken. De cellijn vertoont een typische kassei-morfologie wanneer deze tot confluente wordt gekweekt en vormt onder standaard kweekomstandigheden hechtende monolaagjes. PIEC's behouden belangrijke endotheliale kenmerken, waaronder contactremming, expressie van endotheliale markers zoals von Willebrand-factor (vWF) en het vermogen om capillaire structuren te vormen in geschikte in-vitrotests. Vanwege hun vasculaire oorsprong worden PIEC's veel gebruikt als model voor het bestuderen van de endotheliale biologie van varkens en interacties tussen gastheer en ziekteverwekker.

Functioneel vertonen PIEC's kenmerken die overeenkomen met macrovasculaire endotheelcellen, waaronder responsiviteit op inflammatoire stimuli en het vermogen om adhesiemoleculen tot expressie te brengen die betrokken zijn bij de rekrutering van leukocyten. Ze worden op grote schaal gebruikt in virologisch onderzoek, met name voor de vermeerdering en studie van varkensvirussen zoals het klassieke varkenspestvirus (CSFV), het Afrikaanse varkenspestvirus (ASFV) en het varkensreproductie- en respiratoire syndroomvirus (PRRSV). Door hun hoge vatbaarheid voor bepaalde virale infecties en stabiele groeikenmerken zijn ze een waardevol in-vitrosysteem voor studies naar virale replicatie, antivirale screening en vaccinonderzoek.

Naast toepassingen op het gebied van infectieziekten dienen PIEC's als een relevant endotheelmodel voor grote dieren voor het onderzoeken van de vasculaire barrière functie, endotheliale activering, angiogenese en inflammatoire signaalwegen. Als een van varkens afkomstige endotheellijn bieden PIEC's translationele relevantie voor vergelijkend cardiovasculair onderzoek en preklinische studies waarbij vaak varkensmodellen worden gebruikt.

Organism Varken

Tissue Vasculair endotheel

Kenmerken

Morphology Epitheel

Growth properties Aanhangend

Regelgevende gegevens

Citation PIEC (Cytion catalogusnummer 305213)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9823

CellosaurusAccession CVCL_C0W5

PIEC-cellen | 305213

Biomoleculaire gegevens

Omgaan met

Culture Medium RPMI 1640, w: 2,0 mM stabiele Glutamine, w: 2,0 g/L NaHCO₃ (Cytion artikelnummer 820700a)

Supplements Vul het medium aan met hitte-geïnactiveerde 10% FBS

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Verwijder het oude medium van de adherente cellen en was ze met PBS zonder calcium en magnesium. Gebruik voor T25-flesjes 3-5 ml PBS en voor T75-flesjes 5-10 ml. Bedek de cellen vervolgens volledig met Accutase, met 1-2 ml voor T25-flesjes en 2,5 ml voor T75-flesjes. Laat de cellen gedurende 8-10 minuten bij kamertemperatuur incuberen om ze los te maken. Na incubatie de cellen voorzichtig mengen met 10 ml medium om ze te resuspenderen en vervolgens centrifugeren bij 300xg gedurende 3 minuten. Gooi het supernatant weg, resuspendeer de cellen in vers medium en breng ze over in nieuwe kolven die al vers medium bevatten.

Split ratio 1:2 tot 1:4

Fluid renewal 2 tot 3 keer per week

Freeze medium Gebruik als cryoconserveringsmedium volledig groeimedum (inclusief FBS) + 10% DMSO voor voldoende levensvatbaarheid na ontdooien, of CM-1 (Cytion catalogusnummer 800100), dat geoptimaliseerde osmoprotectanten en metabolische stabilisatoren bevat om het herstel te verbeteren en door cryo geïnduceerde stress te verminderen.

PIEC-cellen | 305213

Thawing and Culturing Cells

1. Controleer of de flacon bij levering diepgevroren blijft, aangezien de cellen op droog ijs worden verzonden om optimale temperaturen tijdens het transport te behouden.
2. Bewaar het cryoflesje na ontvangst onmiddellijk bij temperaturen lager dan $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ om de integriteit van de cellen te behouden, of ga verder met stap 3 als onmiddellijke kweek vereist is.
3. Voor onmiddellijke kweek: ontdooi de flacon snel door deze onder te dompelen in een waterbad van $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ met schoon water en een antimicrobieel middel, waarbij u 40-60 seconden zachtjes schudt totdat er een klein ijsklontje overblijft.
4. Voer alle volgende stappen uit onder steriele omstandigheden in een stromingskap en desinfecteer de cryoflacon met 70% ethanol voordat deze wordt geopend.
5. Open voorzichtig de gedesinfecteerde flacon en breng de celsuspensie over in een centrifugebuis van 15 ml met 8 ml kweekmedium op kamertemperatuur en meng voorzichtig.
6. Centrifugeer het mengsel gedurende 3 minuten bij $300 \times g$ om de cellen te scheiden en gooi het supernatant met resterend vriesmedium voorzichtig weg.
7. Resuspendeer de celpellet voorzichtig in 10 ml vers kweekmedium. Verdeel voor adherente cellen de suspensie over twee T25-kweekkolven; breng voor suspensiekweken al het medium over in één T25-kweekkolf om effectieve celinteractie en -groei te bevorderen.
8. Houd u aan de vastgestelde subcultuurprotocollen voor continue groei en onderhoud van de cellijn, om betrouwbare experimentele resultaten te garanderen.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , bevochtigde atmosfeer.

Flask Coating

Voor een optimale hechting en levensvatbaarheid na het ontdooien raden we aan **met collageen gecoate kolven of platen** te gebruiken.

Freezing Procedure

Gecryopreserveerde cellijnen worden verzonden op droog ijs in gevalideerde, geïsoleerde verpakkingen met voldoende koelmiddel om gedurende het transport ongeveer $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ te handhaven. Inspecteer de verpakking onmiddellijk na ontvangst en breng de flacons onverwijld over naar de juiste opslagplaats.

PIEC-cellen | 305213

**Shipping
Conditions**

Gecryopreserveerde cellijnen worden verzonden op droog ijs in gevalideerde, geïsoleerde verpakkingen met voldoende koelmiddel om gedurende het transport ongeveer -78 °C te handhaven. Inspecteer de verpakking onmiddellijk na ontvangst en breng de flacons onverwijld over naar de juiste opslagplaats.

**Storage
Conditions**

Voor langdurige bewaring plaatst u flesjes in vloeibare stikstof in dampfase bij ongeveer -150 tot -196 °C. Opslag bij -80 °C is alleen aanvaardbaar als korte tussenstap vóór overbrenging naar vloeibare stikstof.

Kwaliteitscontrole / Genetisch profiel / HLA

Sterility

Mycoplasma-verontreiniging wordt uitgesloten met zowel PCR-gebaseerde testen als op luminescentie gebaseerde mycoplasma-detectiemethoden.

Om er zeker van te zijn dat er geen besmetting is met bacteriën, schimmels of gisten, worden de celculturen dagelijks onderworpen aan visuele inspecties.