

PIEC-celler | 305213

Generell informasjon

Description

PIEC (Porcine Iliac Endothelial Cells) er en spontant immortalisert endotelcellelinje avledet fra endotelet i iliacarrieren til en ung gris. Cellelinjen viser en typisk brosteinsmorfologi når den vokser til konfluens og danner vedheftende monolag under standard dyrkningsbetingelser. PIEC-celler beholder viktige endotelkarakteristika, inkludert kontaktinhibering, uttrykk for endotelmarkører som von Willebrand-faktor (vWF) og evnen til å danne kapillærlignende strukturer i passende in vitro-assayer. På grunn av sin vaskulære opprinnelse brukes PIEC-celler mye som modell for å studere endotelbiologi hos svin og interaksjoner mellom vert og patogen.

Funksjonelt viser PIEC-celler egenskaper som er konsistente med makrovaskulære endotelceller, inkludert respons på inflammatoriske stimuli og evnen til å uttrykke adhesjonsmolekyler involvert i rekruttering av leukocytter. De har blitt mye brukt i virologisk forskning, særlig for forplantning og studier av svinevirus som klassisk svinepestvirus (CSFV), afrikansk svinepestvirus (ASFV) og svine reproduktivt og respiratorisk syndromvirus (PRRSV). Deres høye toleranse for visse virusinfeksjoner og stabile vekstegenskaper gjør dem til et verdifullt in vitro-system for studier av virusreplikasjon, antiviral screening og vaksineforskning.

Utover anvendelser innen smittsomme sykdommer fungerer PIEC som en relevant endotelmodell for store dyr for å undersøke vaskulær barrierefunksjon, endotelaktivering, angiogenese og inflammatoriske signalveier. Som en endotelcelle fra svin gir PIEC translatorisk relevans for komparativ kardiovaskulær forskning og prekliniske studier hvor svinemodeller ofte benyttes.

Organism Gris

Tissue Vaskulært endotel

Kjennetegn

Morphology Epitelial

Growth properties Vedhengende

Regulatoriske data

Citation PIEC (Cytion-katalognummer 305213)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9823

CellosaurusAccession CVCL_C0W5

Biomolekylære data

PIEC-celler | 305213

Håndtering

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

Suppler mediet med varmeinaktivert 10 % FBS

Dissociation Reagent

Accutase

Subculturing

Fjern det gamle mediet fra de adherente cellene, og vask dem med PBS uten kalsium og magnesium. Bruk 3-5 ml PBS for T25-kolber og 5-10 ml for T75-kolber. Dekk deretter cellene helt med Accutase, med 1-2 ml for T25-kolber og 2,5 ml for T75-kolber. La cellene inkubere i romtemperatur i 8-10 minutter for å løsne dem. Etter inkubasjon blandes cellene forsiktig med 10 ml medium for å resuspendere dem, og sentrifuger deretter ved 300xg i 3 minutter. Kast supernatanten, resuspendere cellene i nytt medium, og overfør dem til nye kolber som allerede inneholder nytt medium.

Split ratio

1:2 til 1:4

Fluid renewal

2 til 3 ganger per uke

Freeze medium

Som kryopreserveringsmedium kan du bruke komplett vekstmedium (inkludert FBS) + 10 % DMSO for tilstrekkelig levedyktighet etter opptining, eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som inneholder optimaliserte osmoteskyttende midler og metabolske stabilisatorer for å øke utvinningen og redusere kryoundusert stress.

PIEC-celler | 305213

Thawing and Culturing Cells

1. Kontroller at hetteglasset er dypfrost ved levering, ettersom cellene sendes på tørris for å opprettholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved mottak skal hetteglasset enten oppbevares umiddelbart ved temperaturer under $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ for å sikre at cellenes integritet bevares, eller gå videre til trinn 3 hvis umiddelbar dyrking er nødvendig.
3. Ved umiddelbar dyrking tiner du hetteglasset raskt ved å senke det ned i et $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ varmt vannbad med rent vann og et antimikrobielt middel, og røre forsiktig i 40-60 sekunder til det blir en liten isklump igjen.
4. Utfør alle påfølgende trinn under sterile forhold i en strømningshette, og desinfiser kryoflasken med 70 % etanol før du åpner den.
5. Åpne det desinfiserte hetteglasset forsiktig, og overfør cellesuspensjonen til et 15 ml sentrifugerør som inneholder 8 ml romtemperert dyrkingsmedium, og bland forsiktig.
6. Sentrifuger blandingen ved $300 \times g$ i 3 minutter for å separere cellene, og kast supernatanten som inneholder rester av frysemedium, forsiktig.
7. Resuspender cellepelletten forsiktig i 10 ml nytt dyrkingsmedium. For adherente celler, del suspensjonen mellom to T25-kulturkolber; for suspensjonskulturer, overfør alt mediet til én T25-kolbe for å fremme effektiv celleinteraksjon og vekst.
8. Følg etablerte subkulturprotokoller for fortsatt vekst og vedlikehold av cellelinjen, noe som sikrer pålitelige eksperimentelle resultater.

Incubation Atmosphere

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

Flask Coating

For optimal feste og levedyktighet etter tining anbefaler vi å bruke **kollagenbelagte kolber eller plater**.

Freezing Procedure

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca. $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

Shipping Conditions

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca. $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

PIEC-celler | 305213

Storage Conditions

For langtidsoppbevaring plasseres hetteglassene i flytende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Lagring ved -80 °C er kun akseptabelt som et kort mellomtrinn før overføring til flytende nitrogen.

Kvalitetskontroll / Genetisk profil / HLA

Sterility

Mykoplasma-kontaminering utelukkes ved hjelp av både PCR-baserte analyser og luminescensbaserte metoder for påvisning av mykoplasma.

For å sikre at det ikke finnes bakterie-, sopp- eller gjærkontaminering, blir cellekulturene inspisert visuelt hver dag.