

PK-15-Zellen | 607426

Allgemeine Informationen

Description

Die PK(15)-Zelllinie, die von PK-2A abgeleitet ist, einer 1955 aus der Niere eines erwachsenen Schweins hergestellten Zelllinie, ist mit dem porzinen Onkovirus vom Typ C (früher bekannt als porzines endogenes Retrovirus, PERV) infiziert, das als Erreger der Risikogruppe 2 eingestuft ist. Das Genom der Wirtszelle enthält 62 Kopien des *pol*-Gens, das für die reverse Transkriptase und andere Proteine kodiert.

Ursprünglich wurden die von der PK(15)-Zelllinie produzierten Viruspartikel als defekt und nicht infektiös für eine Vielzahl von Säugetierzelllinien, einschließlich einer menschlichen Zelllinie, beschrieben, was zu ihrer Einstufung als Zelllinie der Risikogruppe 1 führte. Spätere Studien zeigten jedoch, dass menschliche 293-Zellen durch den zellfreien Überstand von PK(15)-Zellen produktiv infiziert werden können. Dieser Befund führte im November 2018 zu einer Neueinstufung der PK(15)-Zelllinie durch die Zentrale Kommission für Biologische Sicherheit (ZKBS).

PCR-Analysen ergaben, dass die übertragenen Viren zu den polytropen Subtypen PERV-A und PERV-B gehörten. Zudem wurde festgestellt, dass die von den 293-Zellen produzierten Viruspartikel resistent gegen die Inaktivierung durch das menschliche Komplementsystem waren.

Zusätzlich zu ihrer virologischen Bedeutung dient die PK(15)-Zelllinie auch als geeigneter Wirt für Transfektionsanwendungen. Aufgrund ihrer adhärennten Wachstumseigenschaften ist sie in verschiedenen Forschungs- und Versuchsumgebungen von großem Wert.

Organism Schwein

Tissue Niere

Synonyms PK(15), PK (15), PK 15, PK15, Schweineniere-15

Merkmale

Breed/Subspecies Hampshire

Age Erwachsener

Gender Männlich

Morphology Epithelähnlich

Growth properties Monolayer, haftend

Regulatorische Daten

PK-15-Zellen | 607426

Citation	PK-15 (Cytion-Katalognummer 607426)
-----------------	-------------------------------------

Biosafety level	<p>Biosicherheitsstufe 1.</p> <p>Die Zelllinie beherbergt Sequenzen des Porcinen Onkovirus Typ C (PCOV) und deren Transkripte, und es kann nicht ausgeschlossen werden, dass es zu einer Virussekretion kommt. In Deutschland sind diese Viren in BSL 1 für Menschen und BSL 2 für Tiere eingestuft (TRBA 462). Die deutsche Zentralkommission für Biologische Sicherheit (ZKBS) stuft diese Viren und infizierten Zelllinien jedoch in BSL 2 ein, wenn sie zu gentechnischen Zwecken eingesetzt werden.</p>
------------------------	--

NCBI_TaxID	9823
-------------------	------

CellosaurusAccession	CVCL_2160
-----------------------------	-----------

Biomolekulare Daten

Viruses	PCV1 (Porcines Circovirus 1) positiv, PCV2 negativ, PCV3 negativ
----------------	--

Virus susceptibility	Schweinecholera, Afrikanische Schweinepest, vesikuläres Exanthem der Schweine, Maul- und Klauenseuche (FMDV), vesikuläre Stomatitis (Indiana), Vacciniöse, Reovirus 2, 3, Adenovirus 4, 5, Coxsackievirus B2, B3, B4, B5, B6
-----------------------------	--

Virus resistance	Polio-Virus 2
-------------------------	---------------

Reverse transcriptase	Positiv
------------------------------	---------

Handhabung

Culture Medium	EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamin, w: 2,2 g/L NaHCO ₃ , w: EBSS (Cytion-Artikelnummer 820100a)
-----------------------	--

Supplements	Ergänzen Sie das Medium mit 10% FBS und 1% NEAA
--------------------	---

Dissociation Reagent	Accutase
-----------------------------	----------

PK-15-Zellen | 607426

Subculturing Entfernen Sie das alte Medium von den adhärenen Zellen und waschen Sie sie mit PBS, das kein Kalzium und Magnesium enthält. Für T25-Kolben 3-5 ml PBS und für T75-Kolben 5-10 ml verwenden. Anschließend werden die Zellen vollständig mit Accutase bedeckt, wobei 1-2 ml für T25-Kolben und 2,5 ml für T75-Kolben verwendet werden. Lassen Sie die Zellen 8-10 Minuten bei Raumtemperatur inkubieren, um sie abzulösen. Nach der Inkubation mischen Sie die Zellen vorsichtig mit 10 ml Medium, um sie zu resuspendieren, und zentrifugieren sie dann 3 Minuten lang bei 300xg. Den Überstand verwerfen, die Zellen in frischem Medium resuspendieren und in neue Kolben überführen, die bereits frisches Medium enthalten.

Split ratio Empfohlen wird ein Verhältnis von 1:2 bis 1:4

Seeding density 2×10^4 Zellen/cm²

Fluid renewal 2 bis 3 Mal pro Woche

Post-Thaw Recovery Lassen Sie die Zellen mindestens 24 bis 48 Stunden nach dem Einfrieren ruhen.

Freeze medium Verwenden Sie als Kryokonservierungsmedium ein komplettes Wachstumsmedium (einschließlich FBS) + 10 % DMSO für eine angemessene Lebensfähigkeit nach dem Auftauen oder CM-1 (Cytion-Katalognummer 800100), das optimierte Osmoprotektoren und Stoffwechselstabilisatoren enthält, um die Erholung zu verbessern und kryoinduzierten Stress zu reduzieren.

PK-15-Zellen | 607426

Thawing and Culturing Cells

1. Vergewissern Sie sich, dass das Fläschchen bei der Lieferung tiefgefroren ist, da die Zellen auf Trockeneis versandt werden, um während des Transports optimale Temperaturen zu erhalten.
2. Lagern Sie das Kryofläschchen nach Erhalt entweder sofort bei Temperaturen unter $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, um die Unversehrtheit der Zellen zu gewährleisten, oder fahren Sie mit Schritt 3 fort, wenn eine sofortige Kultivierung erforderlich ist.
3. Für eine sofortige Kultivierung tauen Sie das Fläschchen schnell auf, indem Sie es in ein 37°C warmes Wasserbad mit sauberem Wasser und einem antimikrobiellen Mittel eintauchen und 40-60 Sekunden lang vorsichtig schütteln, bis ein kleiner Eisklumpen zurückbleibt.
4. Führen Sie alle weiteren Schritte unter sterilen Bedingungen in einer Abzugshaube durch und desinfizieren Sie das Kryo-Fläschchen vor dem Öffnen mit 70%igem Ethanol.
5. Das desinfizierte Fläschchen vorsichtig öffnen und die Zellsuspension unter vorsichtigem Mischen in ein 15-ml-Zentrifugenröhrchen mit 8 ml Kulturmedium bei Raumtemperatur überführen.
6. Zentrifugieren Sie das Gemisch 3 Minuten lang bei $300 \times g$, um die Zellen abzutrennen, und werfen Sie den Überstand mit dem restlichen Gefriermedium vorsichtig.
7. Das Zellpellet vorsichtig in 10 ml frischem Kulturmedium resuspendieren. Bei adhären Zellen die Suspension auf zwei T25-Kulturflaschen aufteilen; bei Suspensionskulturen das gesamte Medium in eine T25-Flasche überführen, um eine effektive Zellinteraktion und ein effektives Wachstum zu fördern.
8. Halten Sie sich an die festgelegten Subkulturprotokolle, um ein kontinuierliches Wachstum und die Aufrechterhaltung der Zelllinie zu gewährleisten und zuverlässige Versuchsergebnisse zu erzielen.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , befeuchtete Atmosphäre.

Flask Coating

Um eine optimale Anheftung und Lebensfähigkeit nach dem Auftauen zu gewährleisten, empfehlen wir die Verwendung von **kollagenbeschichteten Flaschen oder Platten**.

Freezing Procedure

Kryokonservierte Zelllinien werden auf Trockeneis in einer validierten, isolierten Verpackung mit ausreichend Kühlmittel versandt, um während des gesamten Transports eine Temperatur von etwa $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ aufrechtzuerhalten. Prüfen Sie den Behälter bei Erhalt sofort und bringen Sie die Fläschchen unverzüglich in ein geeignetes Lager.

PK-15-Zellen | 607426

Shipping Conditions

Kryokonservierte Zelllinien werden auf Trockeneis in einer validierten, isolierten Verpackung mit ausreichend Kühlmittel versandt, um während des gesamten Transports eine Temperatur von etwa -78 °C aufrechtzuerhalten. Prüfen Sie den Behälter bei Erhalt sofort und bringen Sie die Fläschchen unverzüglich in ein geeignetes Lager.

Storage Conditions

Zur Langzeitkonservierung werden die Fläschchen in flüssigem Stickstoff bei etwa -150 bis -196 °C gelagert. Eine Lagerung bei -80 °C ist nur als kurzer Zwischenschritt vor der Überführung in flüssigen Stickstoff akzeptabel.

Qualitätskontrolle / Genetisches Profil / HLA

Sterility

Eine Kontamination mit Mykoplasmen wird sowohl durch PCR-basierte Assays als auch durch lumineszenzbasierte Mykoplasmen-Nachweisverfahren ausgeschlossen.

Um sicherzustellen, dass keine Kontamination mit Bakterien, Pilzen oder Hefen vorliegt, werden die Zellkulturen täglich visuell überprüft.

STR-Profil

Amelogenin: x,x