

Κύτταρα PK-15 | 607426

Γενικές πληροφορίες

Description

Η κυτταρική σειρά PK(15), που προέρχεται από την PK-2A, μια κυτταρική σειρά που δημιουργήθηκε το 1955 από το νεφρό ενός ενήλικου χοίρου, έχει μολυνθεί με τον ογκοϊό των χοίρων τύπου C (παλαιότερα γνωστό ως ενδογενής ρετροϊός των χοίρων, PERV), ο οποίος ταξινομείται ως παράγοντας της ομάδας κινδύνου 2. Το γονιδίωμα του κυττάρου ξενιστή περιέχει 62 αντίγραφα του γονιδίου *rol*, το οποίο κωδικοποιεί την αντίστροφη μεταγραφάση και άλλες πρωτεΐνες.

Αρχικά, τα σωματίδια του ιού που παρήχθησαν από την κυτταρική σειρά PK(15) περιγράφηκαν ως ελαττωματικά και μη μολυσματικά για μια ποικιλία κυτταρικών σειρών θηλαστικών, συμπεριλαμβανομένης μιας ανθρώπινης κυτταρικής σειράς, γεγονός που οδήγησε στην ταξινόμησή της ως κυτταρικής σειράς ομάδας κινδύνου 1. Ωστόσο, μεταγενέστερες μελέτες έδειξαν ότι τα ανθρώπινα κύτταρα 293 μπορούσαν να μολυνθούν παραγωγικά από το υπερκείμενο χωρίς κύτταρα των κυττάρων PK(15). Η διαπίστωση αυτή είχε ως αποτέλεσμα την επαναταξινόμηση της κυτταρικής σειράς PK(15) από τη γερμανική Κεντρική Επιτροπή Βιολογικής Ασφάλειας (ZKBS) τον Νοέμβριο του 2018.

Οι αναλύσεις PCR αποκάλυψαν ότι οι μεταδιδόμενοι ιοί ανήκαν στους πολυτροπικούς υπότυπους PERV-A και PERV-B. Επιπλέον, παρατηρήθηκε ότι τα σωματίδια του ιού που παρήχθησαν από τα κύτταρα 293 ήταν ανθεκτικά στην αδρανοποίηση από το ανθρώπινο σύστημα συμπληρώματος.

Εκτός από την ιολογική της σημασία, η κυτταρική σειρά PK(15) χρησιμεύει επίσης ως κατάλληλος ξενιστής για εφαρμογές διαμόλυνσης. Λόγω των ιδιοτήτων προσκολλητικής ανάπτυξης που διαθέτει, είναι ιδιαίτερα πολύτιμη σε διάφορα ερευνητικά και πειραματικά περιβάλλοντα.

Organism Χοίρος

Tissue Νεφρός

Synonyms PK (15), PK (15), PK 15, PK15, Porcine Kidney-15

Χαρακτηριστικά

Breed/Subspecies Hampshire

Age Ενηλίκων

Gender Άντρας

Morphology Επιθηλιοειδής

Growth properties Μονοστρωματική, προσκολλημένη

Ρυθμιστικά δεδομένα

Κύτταρα PK-15 | 607426

Citation PK-15 (αριθμός καταλόγου Cytion 607426)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9823

CellosaurusAccession CVCL_2160

Βιομοριακά δεδομένα

Viruses PCV1 (χοίρειος κίρκιός 1) θετικός, PCV2 αρνητικός, PCV3 αρνητικός

Virus susceptibility Χολέρα των χοίρων, αφρικανική πανώλη των χοίρων, φυμαλιδώδες εξάνθημα των χοίρων, αφθώδης πυρετός (FMDV), φυμαλιδώδης στοματίτιδα (Indiana), εμβολιασμός, reovirus 2, 3, αδενοϊός 4, 5, coxsackievirus B2, B3, B4, B5, B6

Virus resistance Ιός της πολιομυελίτιδας 2

Reverse transcriptase Θετικό

Χειρισμός

Culture Medium EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-γλουταμίνη, w: 2,2 g/L NaHCO₃, w: EBSS (αριθμός άρθρου Cytion 820100a)

Supplements Συμπληρώστε το μέσο με 10% FBS και 1% NEAA

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Αφαιρέστε το παλιό μέσο από τα προσκολλημένα κύτταρα και πλύντε τα με PBS που δεν περιέχει ασβέστιο και μαγνήσιο. Για φιάλες T25, χρησιμοποιήστε 3-5 ml PBS και για φιάλες T75, χρησιμοποιήστε 5-10 ml. Στη συνέχεια, καλύψτε πλήρως τα κύτταρα με Accutase, χρησιμοποιώντας 1-2 ml για φιάλες T25 και 2,5 ml για φιάλες T75. Αφήστε τα κύτταρα να επωαστούν σε θερμοκρασία δωματίου για 8-10 λεπτά για να αποκολληθούν. Μετά την επώαση, αναμείξτε απαλά τα κύτταρα με 10 ml μέσου για να ανασυσταθούν και, στη συνέχεια, φυγοκεντρίστε στα 300xg για 3 λεπτά. Απορρίψτε το υπερκείμενο υγρό, ανασυστάστε τα κύτταρα σε φρέσκο μέσο και μεταφέρετέ τα σε νέες φιάλες που περιέχουν ήδη φρέσκο μέσο.

Split ratio Συνιστάται αναλογία 1:2 έως 1:4

Κύτταρα PK-15 | 607426**Seeding density** 2 x 10⁴ κύτταρα/cm²**Fluid renewal** 2 έως 3 φορές την εβδομάδα**Post-Thaw Recovery** Αφήστε τα κύτταρα να ανακάμψουν από τη διαδικασία κατάψυξης για τουλάχιστον 24 έως 48 ώρες.**Freeze medium** Ως μέσο κρυσυντήρησης, χρησιμοποιούμε πλήρες μέσο ανάπτυξης (συμπεριλαμβανομένου του FBS) + 10% DMSO για επαρκή βιωσιμότητα μετά την απόψυξη, ή CM-1 (αριθμός καταλόγου Cytion 800100), το οποίο περιλαμβάνει βελτιστοποιημένα ωσμοπροστατευτικά και μεταβολικούς σταθεροποιητές για την ενίσχυση της ανάκαμψης και τη μείωση του στρες που προκαλείται από την κρυσυντήρηση.**Thawing and Culturing Cells**

1. Επιβεβαιώστε ότι το φιαλίδιο παραμένει βαθιά παγωμένο κατά την παράδοση, καθώς τα κύτταρα αποστέλλονται σε ξηρό πάγο για να διατηρούνται οι βέλτιστες θερμοκρασίες κατά τη μεταφορά.
2. Κατά την παραλαβή, είτε αποθηκεύστε το κρυσφιαλίδιο αμέσως σε θερμοκρασίες κάτω των -150°C για να διασφαλίσετε τη διατήρηση της κυτταρικής ακεραιότητας, είτε προχωρήστε στο βήμα 3 εάν απαιτείται άμεση καλλιέργεια.
3. Για άμεση καλλιέργεια, αποψύξτε γρήγορα το φιαλίδιο βυθίζοντάς το σε υδατόλουτρο 37°C με καθαρό νερό και αντιμικροβιακό παράγοντα, αναδεύοντας απαλά για 40-60 δευτερόλεπτα μέχρι να παραμείνει ένα μικρό σβόλο πάγου.
4. Εκτελέστε όλα τα επόμενα βήματα υπό αποστειρωμένες συνθήκες σε απορροφητήρα ροής, απολυμαίνοντας το κρυσφιαλίδιο με 70% αιθανόλη πριν από το άνοιγμα.
5. Ανοίξτε προσεκτικά το απολυμασμένο φιαλίδιο και μεταφέρετε το εναιώρημα των κυττάρων σε ένα σωληνάριο φυγοκέντρησης των 15 ml που περιέχει 8 ml θρεπτικού μέσου καλλιέργειας σε θερμοκρασία δωματίου, αναμειγνύοντας απαλά.
6. Φυγοκεντρίστε το μείγμα στα 300 x g για 3 λεπτά για να διαχωριστούν τα κύτταρα και απορρίψτε προσεκτικά το υπερκείμενο που περιέχει το υπόλοιπο μέσο κατάψυξης.
7. Επανασυσσωματώστε απαλά το κυτταρικό σφαιρίδιο σε 10 ml φρέσκου μέσου καλλιέργειας. Για προσκολλημένα κύτταρα, μοιράστε το εναιώρημα σε δύο φιάλες καλλιέργειας T25- για καλλιέργειες εναιωρήματος, μεταφέρετε όλο το μέσο σε μία φιάλη T25 για να προωθήσετε την αποτελεσματική αλληλεπίδραση και ανάπτυξη των κυττάρων.
8. Τηρείτε τα καθιερωμένα πρωτόκολλα υποκαλλιέργειας για τη συνεχή ανάπτυξη και διατήρηση της κυτταρικής σειράς, εξασφαλίζοντας αξιόπιστα πειραματικά αποτελέσματα.

Κύτταρα PK-15 | 607426

Incubation Atmosphere 37°C, 5% CO₂, υγροποιημένη ατμόσφαιρα.

Flask Coating Κανένα

Freezing Procedure Οι κρυοσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των -78 °C καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.

Shipping Conditions Οι κρυοσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των -78 °C καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.

Storage Conditions Για μακροχρόνια συντήρηση, τοποθετήστε τα φιαλίδια σε υγρό άζωτο σε φάση ατμών σε θερμοκρασία περίπου -150 έως -196 °C. Η αποθήκευση στους -80 °C είναι αποδεκτή μόνο ως σύντομο ενδιάμεσο βήμα πριν από τη μεταφορά σε υγρό άζωτο.

Ποιοτικός έλεγχος / Γενετικό προφίλ / HLA

Sterility Η μόλυνση από μυκόπλασμα αποκλείεται με τη χρήση τόσο των δοκιμασιών που βασίζονται στην PCR όσο και των μεθόδων ανίχνευσης μυκοπλάσματος με βάση τη φωταύγεια.

Για να διασφαλιστεί ότι δεν υπάρχει μόλυνση από βακτήρια, μύκητες ή ζύμες, οι κυτταροκαλλιέργειες υποβάλλονται σε καθημερινές οπτικές επιθεωρήσεις.

Προφίλ STR Amelogenin: x,x