

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

Επίπεδο βιοασφάλειας 1.

Η κυτταρική σειρά περιέχει αλληλουχίες του ογκοϊού των χοίρων τύπου C (PCOV) και τα μεταγραφήματά τους και δεν μπορεί να αποκλειστεί η πιθανότητα έκκρισης του ιού. Στη Γερμανία, αυτοί οι ιοί κατηγοριοποιούνται ως BSL 1 για τον άνθρωπο και BSL 2 για τα ζώα (TRBA 462). Ωστόσο, η Γερμανική Κεντρική Επιτροπή Βιολογικής Ασφάλειας (ZKBS) αποδίδει στους ιούς αυτούς και στις μολυσμένες κυτταρικές σειρές, όταν χρησιμοποιούνται για σκοπούς γενετικής τροποποίησης, ταξινόμηση BSL 2.

NCBI_TaxID 9823

CellosaurusAccession CVCL_2160

Βιομοριακά δεδομένα

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

Virus susceptibility Χολέρα των χοίρων, αφρικανική πανώλη των χοίρων, φυσαλιδώδες εξάνθημα των χοίρων, αφθώδης πυρετός (FMDV), φυσαλιδώδης 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

Κύτταρα PK-15 | 607426

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

Seeding density 2×10^4 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 κρυοσυντήρησης, χρησιμοποιήστε 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 κρυοσυντήρηση.

Κύτταρα PK-15 | 607426**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 κρουφιαλίδιο 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 κρουφιαλίδιο 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.

**Incubation
Atmosphere**

37°C , 5% CO_2 , υγραποιημένη ατμόσφαιρα.

Flask Coating

Για βέλτιστη προσκόλληση και βιωσιμότητα μετά την απόψυξη, συνιστούμε τη χρήση **φιαλών ή πλακών με επικάλυψη κολλαγόνου**.

**Freezing
Procedure**

Οι κρουσυντηρημένες 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.

Κύτταρα PK-15 | 607426

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