

Células PK-15 | 607426

Información general

Description

La línea celular PK(15), derivada de PK-2A, una línea celular establecida en 1955 a partir del riñón de un cerdo adulto, está infectada con el oncovirus porcino de tipo C (anteriormente conocido como retrovirus endógeno porcino, PERV), que está clasificado como agente del grupo de riesgo 2. El genoma de la célula huésped contiene 62 copias del gen *pol*, que codifica la transcriptasa inversa y otras proteínas.

Inicialmente, las partículas de virus producidas por la línea celular PK(15) se describieron como defectuosas y no infecciosas para una variedad de líneas celulares de mamíferos, incluyendo una línea celular humana, lo que llevó a su clasificación como línea celular del grupo de riesgo 1. Sin embargo, estudios posteriores demostraron que las células 293 humanas podían ser infectadas productivamente por el sobrenadante libre de células PK(15). Este hallazgo dio lugar a la reclasificación de la línea celular PK(15) por la Comisión Central Alemana de Seguridad Biológica (ZKBS) en noviembre de 2018.

Los análisis de PCR revelaron que los virus transmitidos pertenecían a los subtipos politrópicos PERV-A y PERV-B. Además, se observó que las partículas de virus producidas por las células 293 eran resistentes a la inactivación por el sistema del complemento humano.

Además de su importancia virológica, la línea celular PK(15) también sirve como huésped adecuado para aplicaciones de transfección. Debido a sus propiedades de crecimiento adherente, es muy valiosa en diversos entornos de investigación y experimentación.

Organism Cerdo

Tissue Riñón

Synonyms PK(15), PK (15), PK 15, PK15, Riñón porcino-15

Características

Breed/Subspecies Hampshire

Age Adultos

Gender Hombre

Morphology De tipo epitelial

Growth properties Monocapa, adherente

Datos reglamentarios

Células PK-15 | 607426**Citation** PK-15 (número de catálogo 607426 de Cytion)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9823**CellosaurusAccession** CVCL_2160**Datos biomoleculares****Viruses** PCV1 (circovirus porcino 1) positivo, PCV2 negativo, PCV3 negativo**Virus susceptibility** Cólera porcino, peste porcina africana, exantema vesicular porcino, fiebre aftosa, estomatitis vesicular (Indiana), vaccinia, reovirus 2, 3, adenovirus 4, 5, coxsackievirus B2, B3, B4, B5, B6**Virus resistance** Poliovirus 2**Reverse transcriptase** Positivo**Manejo de****Culture Medium** EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamina, w: 2,2 g/L NaHCO₃, w: EBSS (número de artículo de Cytion 820100a)**Supplements** Suplementar el medio con un 10% de FBS y un 1% de NEAA**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Retire el medio antiguo de las células adheridas y lávelas con PBS que carezca de calcio y magnesio. Para matraces T25, utilice 3-5 ml de PBS, y para matraces T75, utilice 5-10 ml. A continuación, cubra completamente las células con Accutase, utilizando 1-2 ml para matraces T25 y 2,5 ml para matraces T75. Deje incubar las células a temperatura ambiente durante 8-10 minutos para desprenderlas. Tras la incubación, mezclar suavemente las células con 10 ml de medio para resuspenderlas y, a continuación, centrifugar a 300xg durante 3 minutos. Desechar el sobrenadante, resuspender las células en medio fresco y transferirlas a nuevos matraces que ya contengan medio fresco.**Split ratio** Se recomienda una proporción de 1:2 a 1:4**Seeding density** 2×10^4 células/cm²

Células PK-15 | 607426

Fluid renewal de 2 a 3 veces por semana

Post-Thaw Recovery Deje que las células se recuperen del proceso de congelación durante al menos 24 a 48 horas.

Freeze medium Como medio de criopreservación, utilizamos el medio de crecimiento completo (incluido FBS) + 10% DMSO para una viabilidad adecuada tras la descongelación, o CM-1 (número de catálogo 800100 de Cytion), que incluye osmoprotectores optimizados y estabilizadores metabólicos para mejorar la recuperación y reducir el estrés crioinducido.

Thawing and Culturing Cells

1. Confirme que el vial permanece profundamente congelado en el momento de la entrega, ya que las células se envían en hielo seco para mantener temperaturas óptimas durante el transporte.
2. Tras la recepción, almacene el criovial inmediatamente a temperaturas inferiores a -150°C para garantizar la conservación de la integridad celular, o proceda al paso 3 si se requiere el cultivo inmediato.
3. Para el cultivo inmediato, descongele rápidamente el vial sumergiéndolo en un baño de agua a 37°C con agua limpia y un agente antimicrobiano, agitando suavemente durante 40-60 segundos hasta que quede un pequeño grumo de hielo.
4. Realice todos los pasos siguientes en condiciones estériles en una campana de flujo, desinfectando el criovial con etanol al 70% antes de abrirlo.
5. Abrir con cuidado el vial desinfectado y transferir la suspensión celular a un tubo de centrífuga de 15 ml que contenga 8 ml de medio de cultivo a temperatura ambiente, mezclando suavemente.
6. Centrifugar la mezcla a 300 x g durante 3 minutos para separar las células y desechar cuidadosamente el sobrenadante que contiene medio de congelación residual.
7. Resuspender suavemente el sedimento celular en 10 ml de medio de cultivo fresco. Para las células adherentes, dividir la suspensión entre dos matraces de cultivo T25; para los cultivos en suspensión, transferir todo el medio a un matraz T25 para promover la interacción y el crecimiento celular efectivos.
8. Siga los protocolos de subcultivo establecidos para el crecimiento y mantenimiento continuos de la línea celular, garantizando resultados experimentales fiables.

Incubation Atmosphere 37°C, 5%_{CO2}, atmósfera humidificada.

Flask Coating Ninguno

Células PK-15 | 607426

Freezing Procedure

Las líneas celulares crioconservadas se envían en hielo seco en envases validados y aislados con suficiente refrigerante para mantener aproximadamente -78 °C durante el tránsito. A la recepción, inspeccione el envase inmediatamente y transfiera los viales sin demora al almacenamiento adecuado.

Shipping Conditions

Las líneas celulares crioconservadas se envían en hielo seco en envases validados y aislados con suficiente refrigerante para mantener aproximadamente -78 °C durante el tránsito. A la recepción, inspeccione el envase inmediatamente y transfiera los viales sin demora al almacenamiento adecuado.

Storage Conditions

Para la conservación a largo plazo, coloque los viales en nitrógeno líquido en fase vapor a una temperatura aproximada de -150 a -196 °C. El almacenamiento a -80 °C sólo es aceptable como breve paso intermedio antes de la transferencia al nitrógeno líquido.

Control de calidad / Perfil genético / HLA

Sterility

La contaminación por micoplasma se excluye utilizando tanto ensayos basados en la PCR como métodos de detección de micoplasma basados en la luminiscencia.

Para garantizar la ausencia de contaminación bacteriana, fúngica o por levaduras, los cultivos celulares se someten a inspecciones visuales diarias.

Perfil de STR

Amelogenin: x,x