

Cellules PK-15 | 607426

Informations générales

Description

La lignée cellulaire PK(15), dérivée de PK-2A, une lignée cellulaire établie en 1955 à partir du rein d'un porc adulte, est infectée par l'oncovirus porcin de type C (anciennement connu sous le nom de rétrovirus endogène porcin, PERV), qui est classé dans le groupe de risque 2. Le génome de la cellule hôte contient 62 copies du gène *pol*, qui code pour la transcriptase inverse et d'autres protéines.

Initialement, les particules virales produites par la lignée cellulaire PK(15) ont été décrites comme défectueuses et non infectieuses pour diverses lignées cellulaires de mammifères, y compris une lignée cellulaire humaine, ce qui a conduit à sa classification comme lignée cellulaire du groupe de risque 1. Toutefois, des études ultérieures ont démontré que les cellules humaines 293 pouvaient être infectées de manière productive par le surnageant acellulaire des cellules PK(15). Cette découverte a entraîné la reclassification de la lignée cellulaire PK(15) par la Commission centrale allemande pour la sécurité biologique (ZKBS) en novembre 2018.

Les analyses PCR ont révélé que les virus transmis appartenaient aux sous-types polytropes PERV-A et PERV-B. En outre, il a été observé que les particules virales produites par les cellules 293 étaient résistantes à l'inactivation par le système du complément humain.

Outre son importance virologique, la lignée cellulaire PK(15) constitue également un hôte approprié pour les applications de transfection. En raison de ses propriétés de croissance adhérente, elle est très utile dans divers contextes de recherche et d'expérimentation.

Organism Cochon

Tissue Rein

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

Caractéristiques

Breed/Subspecies Hampshire

Age Adulte

Gender Homme

Morphology De type épithélial

Growth properties Monocouche, adhérente

Données réglementaires

Cellules PK-15 | 607426

Citation PK-15 (numéro de catalogue Cytion 607426)

Biosafety level

Niveau de biosécurité 1.

La lignée cellulaire contient des séquences d'oncovirus porcin de type C (PCOV) et leurs transcriptions, et la possibilité d'une sécrétion virale ne peut être exclue. En Allemagne, ces virus sont classés BSL 1 pour les humains et BSL 2 pour les animaux (TRBA 462). Cependant, le Comité central allemand de sécurité biologique (ZKBS) attribue une classification BSL 2 à ces virus et aux lignées cellulaires infectées lorsqu'ils sont utilisés à des fins de modification génétique.

NCBI_TaxID 9823

CellosaurusAccession CVCL_2160

Données biomoléculaires

Viruses PCV1 (circovirus porcin 1) positif, PCV2 négatif, PCV3 négatif

Virus susceptibility Choléra du porc, peste porcine africaine, exanthème vésiculeux du porc, fièvre aphteuse (FMDV), stomatite vésiculeuse (Indiana), vaccine, réovirus 2, 3, adénovirus 4, 5, coxsackievirus B2, B3, B4, B5, B6

Virus resistance Poliovirus 2

Reverse transcriptase Positif

Manipulation

Culture Medium EMEM (MEM Eagle), w : 2 mM L-Glutamine, w : 2.2 g/L NaHCO₃, w : EBSS (numéro d'article Cytion 820100a)

Supplements Compléter le milieu avec 10 % de FBS et 1 % de NEAA

Dissociation Reagent Accutase

Cellules PK-15 | 607426

Subculturing Retirer l'ancien milieu des cellules adhérentes et les laver avec du PBS dépourvu de calcium et de magnésium. Pour les flacons T25, utiliser 3-5 ml de PBS, et pour les flacons T75, 5-10 ml. Ensuite, recouvrir complètement les cellules avec Accutase, en utilisant 1 à 2 ml pour les flacons T25 et 2,5 ml pour les flacons T75. Laisser les cellules incuber à température ambiante pendant 8-10 minutes pour les détacher. Après incubation, mélanger délicatement les cellules avec 10 ml de milieu pour les remettre en suspension, puis centrifuger à 300xg pendant 3 minutes. Jeter le surnageant, remettre les cellules en suspension dans du milieu frais et les transférer dans de nouveaux flacons contenant déjà du milieu frais.

Split ratio Un rapport de 1:2 à 1:4 est recommandé

Seeding density 2×10^4 cellules/cm²

Fluid renewal 2 à 3 fois par semaine

Post-Thaw Recovery Laisser les cellules se remettre du processus de congélation pendant au moins 24 à 48 heures.

Freeze medium Comme milieu de cryoconservation, utilisez un milieu de croissance complet (comprenant du FBS) + 10 % de DMSO pour une viabilité adéquate après décongélation, ou CM-1 (numéro de catalogue 800100 de Cytion), qui comprend des osmoprotectants et des stabilisateurs métaboliques optimisés pour améliorer la récupération et réduire le stress induit par la cryogénéisation.

Cellules PK-15 | 607426

Thawing and Culturing Cells

1. Confirmer que le flacon est toujours congelé à la livraison, car les cellules sont expédiées sur de la glace sèche pour maintenir des températures optimales pendant le transport.
2. Dès réception, soit conserver immédiatement le cryovial à des températures inférieures à -150°C pour assurer la préservation de l'intégrité cellulaire, soit passer à l'étape 3 si une mise en culture immédiate est nécessaire.
3. Pour une mise en culture immédiate, décongeler rapidement le flacon en l'immergeant dans un bain-marie à 37°C avec de l'eau propre et un agent antimicrobien, en l'agitant doucement pendant 40 à 60 secondes jusqu'à ce qu'il ne reste qu'un petit amas de glace.
4. Effectuer toutes les étapes suivantes dans des conditions stériles sous une hotte à flux, en désinfectant le cryovial avec de l'éthanol à 70 % avant de l'ouvrir.
5. Ouvrir soigneusement le flacon désinfecté et transférer la suspension cellulaire dans un tube à centrifuger de 15 ml contenant 8 ml de milieu de culture à température ambiante, en mélangeant doucement.
6. Centrifuger le mélange à $300 \times g$ pendant 3 minutes pour séparer les cellules et jeter soigneusement le surnageant contenant le milieu de congélation résiduel.
7. Remettre doucement en suspension le culot cellulaire dans 10 ml de milieu de culture frais. Pour les cellules adhérentes, répartir la suspension entre deux flacons de culture T25 ; pour les cultures en suspension, transférer tout le milieu dans un seul flacon T25 afin de favoriser une interaction et une croissance efficaces des cellules.
8. Respecter les protocoles de sous-culture établis pour une croissance et un entretien continu de la lignée cellulaire, garantissant ainsi des résultats expérimentaux fiables.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , atmosphère humidifiée.

Flask Coating

Pour une fixation et une viabilité optimales après décongélation, nous recommandons d'utiliser des **flacons ou des plaques recouverts de collagène**.

Freezing Procedure

Les lignées cellulaires cryoconservées sont expédiées sur glace sèche dans des emballages isolés et validés, avec suffisamment de réfrigérant pour maintenir une température d'environ -78°C tout au long du transport. À la réception, inspecter immédiatement le conteneur et transférer sans délai les flacons dans un lieu de stockage approprié.

Cellules PK-15 | 607426

Shipping Conditions

Les lignées cellulaires cryoconservées sont expédiées sur glace sèche dans des emballages isolés et validés, avec suffisamment de réfrigérant pour maintenir une température d'environ -78 °C tout au long du transport. À la réception, inspecter immédiatement le conteneur et transférer sans délai les flacons dans un lieu de stockage approprié.

Storage Conditions

Pour une conservation à long terme, placer les flacons dans de l'azote liquide en phase vapeur à une température comprise entre -150 et -196 °C environ. Le stockage à -80 °C n'est acceptable qu'en tant qu'étape intermédiaire de courte durée avant le transfert dans l'azote liquide.

Contrôle de qualité / Profil génétique / HLA

Sterility

La contamination par les mycoplasmes est exclue à l'aide de tests basés sur la PCR et de méthodes de détection des mycoplasmes basées sur la luminescence.

Pour s'assurer de l'absence de contamination bactérienne, fongique ou levurienne, les cultures cellulaires font l'objet d'inspections visuelles quotidiennes.

Profil STR

Amelogenin: x,x