

Cellule PK-15 | 607426

Informazioni generali

Description

La linea cellulare PK(15), derivata dalla PK-2A, una linea cellulare creata nel 1955 dal rene di un maiale adulto, è infettata con l'oncovirus suino di tipo C (precedentemente noto come retrovirus endogeno suino, PERV), che è classificato come agente del gruppo di rischio 2. Il genoma della cellula ospite contiene 62 copie del gene *pol*, che codifica per la trascrittasi inversa e altre proteine.

Inizialmente, le particelle virali prodotte dalla linea cellulare PK(15) erano state descritte come difettose e non infettive per una serie di linee cellulari di mammifero, tra cui una linea cellulare umana, il che ha portato alla sua classificazione come linea cellulare del gruppo di rischio 1. Tuttavia, studi successivi hanno dimostrato che la linea cellulare PK(15) è in grado di funzionare con una linea cellulare umana 29(15). Tuttavia, studi successivi hanno dimostrato che le cellule umane 293 possono essere infettate in modo produttivo dal surnatante privo di cellule delle cellule PK(15). Questa scoperta ha portato alla riclassificazione della linea cellulare PK(15) da parte della Commissione centrale tedesca per la sicurezza biologica (ZKBS) nel novembre 2018.

Le analisi PCR hanno rivelato che i virus trasmessi appartenevano ai sottotipi politropici PERV-A e PERV-B. Inoltre, è stato osservato che le particelle virali prodotte dalle cellule 293 erano resistenti all'inattivazione da parte del sistema del complemento umano.

Oltre alla sua importanza virologica, la linea cellulare PK(15) funge anche da ospite adatto per applicazioni di trasfezione. Grazie alle sue proprietà di crescita aderente, è molto utile in vari contesti di ricerca e sperimentazione.

Organism Maiale

Tissue Rene

Synonyms PK(15), PK (15), PK 15, PK15, Rene Porcino-15

Caratteristiche

Breed/Subspecies Hampshire

Age Adulti

Gender Uomo

Morphology Simile all'epitelio

Growth properties Monostrato, aderente

Dati normativi

Cellule PK-15 | 607426**Citation** PK-15 (numero di catalogo Cytion 607426)**Biosafety level**

Livello di biosicurezza 1.

La linea cellulare ospita sequenze di oncovirus porcino di tipo C (PCOV) e i relativi trascritti, e non si può escludere la possibilità di secrezione virale. In Germania, questi virus sono classificati come BSL 1 per l'uomo e BSL 2 per gli animali (TRBA 462). Tuttavia, il Comitato centrale tedesco per la sicurezza biologica (ZKBS) assegna una classificazione BSL 2 a questi virus e alle linee cellulari infette quando vengono utilizzati per scopi di modificazione genetica.

NCBI_TaxID 9823**CellosaurusAccession** CVCL_2160**Dati biomolecolari****Viruses** PCV1 (Porcine circovirus 1) positivo, PCV2 negativo, PCV3 negativo**Virus susceptibility** Colera suino, peste suina africana, esantema vescicolare dei suini, afta epizootica (FMDV), stomatite vescicolare (Indiana), vaccinia, reovirus 2, 3, adenovirus 4, 5, coxsackievirus B2, B3, B4, B5, B6**Virus resistance** Poliovirus 2**Reverse transcriptase** Positivo**Manipolazione****Culture Medium** EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamina, w: 2,2 g/L NaHCO₃, w: EBSS (articolo Cytion numero 820100a)**Supplements** Integrare il terreno di coltura con il 10% di FBS e l'1% di NEAA**Dissociation Reagent** Accutase

Cellule PK-15 | 607426

Subculturing Rimuovere il vecchio terreno dalle cellule aderenti e lavarle con PBS privo di calcio e magnesio. Per le fiasche T25, utilizzare 3-5 ml di PBS e per le fiasche T75, 5-10 ml. Quindi, coprire completamente le cellule con Accutase, utilizzando 1-2 ml per le fiasche T25 e 2,5 ml per le fiasche T75. Lasciare incubare le cellule a temperatura ambiente per 8-10 minuti per staccarle. Dopo l'incubazione, mescolare delicatamente le cellule con 10 ml di terreno per risospenderle, quindi centrifugare a 300xg per 3 minuti. Scartare il surnatante, risospendere le cellule in terreno fresco e trasferirle in nuove fiasche contenenti terreno fresco.

Split ratio Si consiglia un rapporto da 1:2 a 1:4

Seeding density 2×10^4 cellule/cm²

Fluid renewal da 2 a 3 volte alla settimana

Post-Thaw Recovery Lasciare che le cellule si riprendano dal processo di congelamento per almeno 24-48 ore.

Freeze medium Come terreno di crioconservazione, utilizzare un terreno di crescita completo (incluso FBS) + 10% DMSO per un'adeguata vitalità post-scongelo, oppure CM-1 (Cytion numero di catalogo 800100), che include osmoprotettori e stabilizzatori metabolici ottimizzati per migliorare il recupero e ridurre lo stress crio-indotto.

Cellule PK-15 | 607426

Thawing and Culturing Cells

1. Verificare che la fiala rimanga profondamente congelata al momento della consegna, poiché le cellule vengono spedite con ghiaccio secco per mantenere le temperature ottimali durante il trasporto.
2. Al ricevimento, conservare immediatamente la criovial a temperature inferiori a -150°C per garantire la conservazione dell'integrità cellulare, oppure procedere al punto 3 se è necessaria una coltura immediata.
3. Per la coltura immediata, scongelare rapidamente la fiala immergendola in un bagno d'acqua a 37°C con acqua pulita e un agente antimicrobico, agitando delicatamente per 40-60 secondi finché non rimane un piccolo grumo di ghiaccio.
4. Eseguire tutte le fasi successive in condizioni di sterilità in una cappa a flusso, disinfettando la criovial con etanolo al 70% prima dell'apertura.
5. Aprire con cautela la fiala disinfettata e trasferire la sospensione cellulare in una provetta da centrifuga da 15 ml contenente 8 ml di terreno di coltura a temperatura ambiente, mescolando delicatamente.
6. Centrifugare la miscela a 300 x g per 3 minuti per separare le cellule e scartare con cura il surnatante contenente il terreno di coltura residuo.
7. Risospendere delicatamente il pellet cellulare in 10 ml di terreno di coltura fresco. Per le cellule aderenti, dividere la sospensione tra due fiasche di coltura T25; per le colture in sospensione, trasferire tutto il terreno in una fiasca T25 per promuovere l'interazione e la crescita delle cellule.
8. Attenersi ai protocolli di subcoltura stabiliti per la crescita e il mantenimento continui della linea cellulare, garantendo risultati sperimentali affidabili.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO_2 , atmosfera umidificata.

Flask Coating

Per un attaccamento e una vitalità ottimali dopo lo scongelamento, si consiglia di utilizzare **fiasche o piastre rivestite di collagene**.

Freezing Procedure

Le linee cellulari crioconservate vengono spedite su ghiaccio secco in confezioni isolate e convalidate, con una quantità di refrigerante sufficiente a mantenere circa -78 °C durante il trasporto. Al ricevimento, ispezionare immediatamente il contenitore e trasferire immediatamente le fiale in un luogo di conservazione appropriato.

Cellule PK-15 | 607426

Shipping Conditions

Le linee cellulari crioconservate vengono spedite su ghiaccio secco in confezioni isolate e convalidate, con una quantità di refrigerante sufficiente a mantenere circa -78 °C durante il trasporto. Al ricevimento, ispezionare immediatamente il contenitore e trasferire immediatamente le fiale in un luogo di conservazione appropriato.

Storage Conditions

Per la conservazione a lungo termine, porre le fiale in azoto liquido in fase vapore a una temperatura compresa tra -150 e -196 °C circa. La conservazione a -80 °C è accettabile solo come breve fase intermedia prima del trasferimento in azoto liquido.

Controllo di qualità / Profilo genetico / HLA

Sterility

La contaminazione da micoplasma viene esclusa utilizzando sia saggi basati sulla PCR sia metodi di rilevamento del micoplasma basati sulla luminescenza.

Per garantire l'assenza di contaminazione batterica, fungina o da lieviti, le colture cellulari sono sottoposte a ispezioni visive quotidiane.

Profilo STR

Amelogenin: x,x