

PK-15 Cellen | 607426

Algemene informatie

Description

De PK(15)-cellijn, afgeleid van PK-2A, een cellijn die in 1955 werd ontwikkeld uit de nier van een volwassen varken, is geïnfecteerd met het varkens type-C oncovirus (voorheen bekend als porcine endogenous retrovirus, PERV), dat geclassificeerd is als een risicogroep 2-agens. Het genoom van de gastheercel bevat 62 kopieën van het *pol*-gen, dat codeert voor reverse transcriptase en andere eiwitten.

Aankankelijk werden de virusdeeltjes die geproduceerd werden door de PK(15)-cellijn beschreven als defect en niet-infectieus voor verschillende zoogdiercellijnen, waaronder een menselijke cellijn, wat leidde tot de classificatie als risicogroep 1-cellijn. Latere studies toonden echter aan dat menselijke 293 cellen productief geïnfecteerd konden worden door het celvrije supernatant van PK(15)-cellen. Deze bevinding resulteerde in de herclassificatie van de PK(15)-cellijn door de Duitse Centrale Commissie voor Biologische Veiligheid (ZKBS) in november 2018.

Uit PCR-analyses bleek dat de overgedragen virussen behoorden tot de polytropische subtypes PERV-A en PERV-B. Daarnaast werd waargenomen dat de virusdeeltjes geproduceerd door de 293 cellen resistent waren tegen inactivatie door het menselijke complementsysteem.

Naast zijn virologische betekenis is de PK(15)-cellijn ook een geschikte gastheer voor transfectietoepassingen. Vanwege de adherente groei-eigenschappen is het zeer waardevol in verschillende onderzoeks- en experimentele omgevingen.

Organism Varken

Tissue Nieren

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

Kenmerken

Breed/Subspecies Hampshire

Age Volwassen

Gender Mannelijk

Morphology Epitheelachtig

Growth properties Monolaag, adherent

Regelgevende gegevens

PK-15 Cellen | 607426

Citation PK-15 (Cytion catalogusnummer 607426)

Biosafety level

Bioveiligheidsniveau 1.

De cellijn bevat sequenties en transcripten van het Porcine type-C oncovirus (PCOV) en de mogelijkheid van virusafscheiding kan niet worden uitgesloten. In Duitsland zijn deze virussen gecategoriseerd als BSL 1 voor mensen en BSL 2 voor dieren (TRBA 462). De Duitse Centrale Commissie voor Biologische Veiligheid (ZKBS) kent echter een BSL 2-classificatie toe aan deze virussen en geïnfecteerde cellijnen als ze worden gebruikt voor genetische modificatie.

NCBI_TaxID 9823

CellosaurusAccession CVCL_2160

Biomoleculaire gegevens

Viruses PCV1 (Porcine circovirus 1) positief, PCV2 negatief, PCV3 negatief

Virus susceptibility Varkenscholera, Afrikaanse varkenspest, vesiculair exantheem bij varkens, mond- en klauwzeer (MKZ), vesiculaire stomatitis (Indiana), vaccinia, reovirus 2, 3, adenovirus 4, 5, coxsackievirus B2, B3, B4, B5, B6

Virus resistance Poliovirus 2

Reverse transcriptase Positief

Omgaan met

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

Supplements Vul het medium aan met 10% FBS en 1% NEAA

Dissociation Reagent Accutase

PK-15 Cellen | 607426

Subculturing Verwijder het oude medium van de adherente cellen en was ze met PBS zonder calcium en magnesium. Gebruik voor T25-flesjes 3-5 ml PBS en voor T75-flesjes 5-10 ml. Bedek de cellen vervolgens volledig met Accutase, met 1-2 ml voor T25-flesjes en 2,5 ml voor T75-flesjes. Laat de cellen gedurende 8-10 minuten bij kamertemperatuur incuberen om ze los te maken. Na incubatie de cellen voorzichtig mengen met 10 ml medium om ze te resuspenden en vervolgens centrifugeren bij 300xg gedurende 3 minuten. Gooi het supernatant weg, resuspendeer de cellen in vers medium en breng ze over in nieuwe kolven die al vers medium bevatten.

Split ratio Een verhouding van 1:2 tot 1:4 wordt aanbevolen

Seeding density 2×10^4 cellen/cm²

Fluid renewal 2 tot 3 keer per week

Post-Thaw Recovery Laat de cellen minstens 24 tot 48 uur bijkomen van het vriesproces.

Freeze medium Gebruik als cryoconserveringsmedium volledig groeimedum (inclusief FBS) + 10% DMSO voor voldoende levensvatbaarheid na ontdooien, of CM-1 (Cytion catalogusnummer 800100), dat geoptimaliseerde osmoprotectanten en metabolische stabilisatoren bevat om het herstel te verbeteren en door cryo geïnduceerde stress te verminderen.

PK-15 Cellen | 607426

Thawing and Culturing Cells

1. Controleer of de flacon bij levering diepgevroren blijft, aangezien de cellen op droog ijs worden verzonden om optimale temperaturen tijdens het transport te behouden.
2. Bewaar het cryoflesje na ontvangst onmiddellijk bij temperaturen lager dan $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ om de integriteit van de cellen te behouden, of ga verder met stap 3 als onmiddellijke kweek vereist is.
3. Voor onmiddellijke kweek: ontdooi de flacon snel door deze onder te dompelen in een waterbad van $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ met schoon water en een antimicrobieel middel, waarbij u 40-60 seconden zachtjes schudt totdat er een klein ijsklontje overblijft.
4. Voer alle volgende stappen uit onder steriele omstandigheden in een stromingskap en desinfecteer de cryoflacon met 70% ethanol voordat deze wordt geopend.
5. Open voorzichtig de gedesinfecteerde flacon en breng de celsuspensie over in een centrifugebuis van 15 ml met 8 ml kweekmedium op kamertemperatuur en meng voorzichtig.
6. Centrifugeer het mengsel gedurende 3 minuten bij $300 \times g$ om de cellen te scheiden en gooi het supernatant met resterend vriesmedium voorzichtig weg.
7. Resuspendeer de celpellet voorzichtig in 10 ml vers kweekmedium. Verdeel voor adherente cellen de suspensie over twee T25-kweekkolven; breng voor suspensiekweken al het medium over in één T25-kweekkolf om effectieve celinteractie en -groei te bevorderen.
8. Houd u aan de vastgestelde subcultuurprotocollen voor continue groei en onderhoud van de cellijn, om betrouwbare experimentele resultaten te garanderen.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , bevochtigde atmosfeer.

Flask Coating

Voor een optimale hechting en levensvatbaarheid na het ontdooien raden we aan **met collageen gecoate kolven of platen** te gebruiken.

Freezing Procedure

Gecryopreserveerde cellijnen worden verzonden op droog ijs in gevalideerde, geïsoleerde verpakkingen met voldoende koelmiddel om gedurende het transport ongeveer $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ te handhaven. Inspecteer de verpakking onmiddellijk na ontvangst en breng de flacons onverwijld over naar de juiste opslagplaats.

PK-15 Cellen | 607426

**Shipping
Conditions**

Gecryopreserveerde cellijnen worden verzonden op droog ijs in gevalideerde, geïsoleerde verpakkingen met voldoende koelmiddel om gedurende het transport ongeveer -78 °C te handhaven. Inspecteer de verpakking onmiddellijk na ontvangst en breng de flacons onverwijld over naar de juiste opslagplaats.

**Storage
Conditions**

Voor langdurige bewaring plaatst u flesjes in vloeibare stikstof in dampfase bij ongeveer -150 tot -196 °C. Opslag bij -80 °C is alleen aanvaardbaar als korte tussenstap vóór overbrenging naar vloeibare stikstof.

Kwaliteitscontrole / Genetisch profiel / HLA

Sterility

Mycoplasma-verontreiniging wordt uitgesloten met zowel PCR-gebaseerde testen als op luminescentie gebaseerde mycoplasma-detectiemethoden.

Om er zeker van te zijn dat er geen besmetting is met bacteriën, schimmels of gisten, worden de celculturen dagelijks onderworpen aan visuele inspecties.

STR profiel

Amelogenin: x,x