

PK-15-celler | 607426

Generell informasjon

Description

PK(15)-cellelinjen, som er avledet fra PK-2A, en cellelinje som ble etablert i 1955 fra nyrene til en voksen gris, er infisert med porcint onkovirus type C (tidligere kjent som porcint endogent retrovirus, PERV), som er klassifisert som et agens i risikogruppe 2. Vertscellens genom inneholder 62 kopier av *pol*-genet, som koder for revers transkriptase og andre proteiner.

Opprinnelig ble viruspartiklene produsert av PK(15)-cellelinjen beskrevet som defekte og ikke-infeksiøse for en rekke pattedyrcellelinjer, inkludert en human cellelinje, noe som førte til at den ble klassifisert som en risikogruppe 1-cellelinje. Senere studier viste imidlertid at humane 293-celler kunne infiseres produktivt av den cellefrie supernatanten fra PK(15)-celler. Dette funnet resulterte i at PK(15)-cellelinjen ble omklassifisert av den tyske sentralkommisjonen for biologisk sikkerhet (ZKBS) i november 2018.

PCR-analyser avslørte at de overførte virusene tilhørte de polytrope subtypene PERV-A og PERV-B. I tillegg ble det observert at viruspartiklene som ble produsert av 293-cellene, var motstandsdyktige mot inaktivering av det humane komplementsystemet.

I tillegg til sin virologiske betydning er PK(15)-cellelinjen også en egnet vert for transfeksjonsapplikasjoner. På grunn av sine adherente vekstegenskaper er den svært verdifull i ulike forsknings- og forskningsmiljøer.

Organism Gris

Tissue Nyre

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

Kjennetegn

Breed/Subspecies Hampshire

Age Voksen

Gender Mann

Morphology Epitel-lignende

Growth properties Monolag, vedheftende

Regulatoriske data

Citation PK-15 (Cytion-katalognummer 607426)

PK-15-celler | 607426

Biosafety level

Biosikkerhetsnivå 1.

Cellelinjen inneholder sekvenser og transkripsjoner av porcint type C oncovirus (PCOV), og muligheten for virusutskillelse kan ikke utelukkes. I Tyskland er disse virusene kategorisert som BSL 1 for mennesker og BSL 2 for dyr (TRBA 462). Den tyske sentralkomiteen for biologisk sikkerhet (ZKBS) klassifiserer imidlertid disse virusene og infiserte cellelinjer som BSL 2 når de brukes til genmodifiseringsformål.

NCBI_TaxID

9823

CellosaurusAccession

CVCL_2160

Biomolekylære data**Viruses**

PCV1 (Porcint circovirus 1) positiv, PCV2 negativ, PCV3 negativ

Virus susceptibility

Svinekolera, afrikansk svinepest, vesikulært eksantem hos svin, munn- og klovsyke (FMDV), vesikulær stomatitt (Indiana), vaksinia, reovirus 2, 3, adenovirus 4, 5, coxsackievirus B2, B3, B4, B5, B6

Virus resistance

Poliovirus 2

Reverse transcriptase

Positiv

Håndtering**Culture Medium**EMEM (MEM Eagle), m: 2 mM L-Glutamin, m: 2,2 g/L NaHCO₃, m: EBSS (Cytion artikkelnummer 820100a)**Supplements**

Suppler mediet med 10 % FBS og 1 % NEAA

Dissociation Reagent

Accutase

Subculturing

Fjern det gamle mediet fra de adherente cellene, og vask dem med PBS uten kalsium og magnesium. Bruk 3-5 ml PBS for T25-kolber og 5-10 ml for T75-kolber. Dekk deretter cellene helt med Accutase, med 1-2 ml for T25-kolber og 2,5 ml for T75-kolber. La cellene inkubere i romtemperatur i 8-10 minutter for å løsne dem. Etter inkubasjon blandes cellene forsiktig med 10 ml medium for å resuspendere dem, og sentrifuger deretter ved 300xg i 3 minutter. Kast supernatanten, resuspendere cellene i nytt medium, og overfør dem til nye kolber som allerede inneholder nytt medium.

Split ratio

Et forhold på 1:2 til 1:4 anbefales

PK-15-celler | 607426

Seeding density 2 x 10⁴ celler/cm²

Fluid renewal 2 til 3 ganger per uke

Post-Thaw Recovery La cellene restituere seg fra fryseprosessen i minst 24 til 48 timer.

Freeze medium Som kryopreserveringsmedium kan du bruke komplett vekstmedium (inkludert FBS) + 10 % DMSO for tilstrekkelig levedyktighet etter opptining, eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som inneholder optimaliserte osmoberyddende midler og metabolske stabilisatorer for å øke utvinningen og redusere kryoinduisert stress.

Thawing and Culturing Cells

1. Kontroller at hetteglasset er dypfryst ved levering, ettersom cellene sendes på tørris for å opprettholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved mottak skal hetteglasset enten oppbevares umiddelbart ved temperaturer under -150 °C for å sikre at cellenes integritet bevares, eller gå videre til trinn 3 hvis umiddelbar dyrking er nødvendig.
3. Ved umiddelbar dyrking tiner du hetteglasset raskt ved å senke det ned i et 37 °C varmt vannbad med rent vann og et antimikrobielt middel, og røre forsiktig i 40-60 sekunder til det blir en liten isklump igjen.
4. Utfør alle påfølgende trinn under sterile forhold i en strømningshette, og desinfiser kryoflasken med 70 % etanol før du åpner den.
5. Åpne det desinfiserte hetteglasset forsiktig, og overfør cellesuspensjonen til et 15 ml sentrifugerør som inneholder 8 ml romtemperert dyrkingsmedium, og bland forsiktig.
6. Sentrifuger blandingen ved 300 x g i 3 minutter for å separere cellene, og kast supernatanten som inneholder rester av frysemedium, forsiktig.
7. Resuspender cellepelletten forsiktig i 10 ml nytt dyrkingsmedium. For adherente celler, del suspensjonen mellom to T25-kulturkolber; for suspensjonskulturer, overfør alt mediet til én T25-kolbe for å fremme effektiv celleinteraksjon og vekst.
8. Følg etablerte subkulturprotokoller for fortsatt vekst og vedlikehold av cellelinjen, noe som sikrer pålitelige eksperimentelle resultater.

Incubation Atmosphere 37 °C, 5 % CO₂, befuktet atmosfære.

PK-15-celler | 607426

Flask Coating

For optimal feste og levedyktighet etter tining anbefaler vi å bruke **kollagenbelagte kolber eller plater**.

Freezing Procedure

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca. -78 °C under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

Shipping Conditions

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca. -78 °C under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

Storage Conditions

For langtidsoppbevaring plasseres hetteglassene i flytende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Lagring ved -80 °C er kun akseptabelt som et kort mellomtrinn før overføring til flytende nitrogen.

Kvalitetskontroll / Genetisk profil / HLA

Sterility

Mykoplasma-kontaminering utelukkes ved hjelp av både PCR-baserte analyser og luminescensbaserte metoder for påvisning av mykoplasma.

For å sikre at det ikke finnes bakterie-, sopp- eller gjærkontaminering, blir cellekulturene inspisert visuelt hver dag.

STR-profil

Amelogenin: x,x