

Células PK-15 | 607426

Informações gerais

Description

A linha celular PK(15), derivada da PK-2A, uma linha celular estabelecida em 1955 a partir do rim de um porco adulto, está infetada com o oncovírus porcino tipo C (anteriormente conhecido como retrovírus endógeno porcino, PERV), que está classificado como um agente do grupo de risco 2. O genoma da célula hospedeira contém 62 cópias do gene *pol*, que codifica a transcriptase reversa e outras proteínas.

Inicialmente, as partículas de vírus produzidas pela linha celular PK(15) foram descritas como defeituosas e não infecciosas para uma variedade de linhas celulares de mamíferos, incluindo uma linha celular humana, o que levou à sua classificação como linha celular do grupo de risco 1. No entanto, estudos posteriores demonstraram que as células humanas 293 podiam ser infectadas de forma produtiva pelo sobrenadante livre de células PK(15). Esta descoberta resultou na reclassificação da linha celular PK(15) pela Comissão Central Alemã de Segurança Biológica (ZKBS) em novembro de 2018.

As análises PCR revelaram que os vírus transmitidos pertenciam aos subtipos politrópicos PERV-A e PERV-B. Além disso, observou-se que as partículas de vírus produzidas pelas células 293 eram resistentes à inativação pelo sistema de complemento humano.

Para além do seu significado virológico, a linha celular PK(15) também serve como hospedeiro adequado para aplicações de transfecção. Devido às suas propriedades de crescimento aderente, é altamente valiosa em vários contextos de investigação e experimentação.

Organism Porco

Tissue Rim

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

Caraterísticas

Breed/Subspecies Hampshire

Age Adulto

Gender Masculino

Morphology De tipo epitelial

Growth properties Monocamada, aderente

Dados regulamentares

Células PK-15 | 607426**Citation** PK-15 (número de catálogo Cytion 607426)**Biosafety level**

Nível de segurança biológica 1.

A linha celular contém sequências de oncovírus porcino tipo C (PCOV) e as suas transcrições, e a possibilidade de secreção viral não pode ser excluída. Na Alemanha, estes vírus são classificados como BSL 1 para humanos e BSL 2 para animais (TRBA 462). No entanto, o Comité Central Alemão de Segurança Biológica (ZKBS) atribui uma classificação BSL 2 a estes vírus e às linhas celulares infectadas quando utilizadas para fins de modificação genética.

NCBI_TaxID 9823**CellosaurusAccession** CVCL_2160**Dados biomoleculares****Viruses** PCV1 (circovírus suíno 1) positivo, PCV2 negativo, PCV3 negativo**Virus susceptibility** Cólera suína, peste suína africana, exantema vesicular do suíno, febre aftosa (VFA), estomatite vesicular (Indiana), vaccinia, reovírus 2, 3, adenovírus 4, 5, coxsackievirus B2, B3, B4, B5, B6**Virus resistance** Poliovírus 2**Reverse transcriptase** Positivo**Manuseamento****Culture Medium** EMEM (MEM Eagle), com: 2 mM L-Glutamina, com: 2,2 g/L NaHCO₃, com: EBSS (número de artigo Cytion 820100a)**Supplements** Completar o meio com 10% de FBS e 1% de NEAA**Dissociation Reagent** Accutase

Células PK-15 | 607426

Subculturing Retirar o meio antigo das células aderentes e lavá-las com PBS sem cálcio e magnésio. Nos frascos T25, utilizar 3-5 ml de PBS e, nos frascos T75, 5-10 ml. Em seguida, cobrir completamente as células com Accutase, utilizando 1-2 ml para os frascos T25 e 2,5 ml para os frascos T75. Deixar as células incubar à temperatura ambiente durante 8-10 minutos para as destacar. Após a incubação, misturar suavemente as células com 10 ml de meio para as ressuspender e, em seguida, centrifugar a 300xg durante 3 minutos. Deitar fora o sobrenadante, ressuspender as células em meio fresco e transferi-las para novos frascos que já contenham meio fresco.

Split ratio Recomenda-se uma proporção de 1:2 a 1:4

Seeding density 2×10^4 células/cm²

Fluid renewal 2 a 3 vezes por semana

Post-Thaw Recovery Deixar as células recuperarem do processo de congelação durante, pelo menos, 24 a 48 horas.

Freeze medium Como meio de criopreservação, utilize um meio de crescimento completo (incluindo FBS) + 10% DMSO para uma viabilidade pós-descongelamento adequada, ou CM-1 (número de catálogo Cytion 800100), que inclui osmoprotectores otimizados e estabilizadores metabólicos para melhorar a recuperação e reduzir o stress induzido pela crio.

Células PK-15 | 607426

Thawing and Culturing Cells

1. Confirme que o frasco permanece profundamente congelado aquando da entrega, uma vez que as células são enviadas em gelo seco para manter as temperaturas ideais durante o transporte.
2. Após a receção, armazenar o frasco criogénico imediatamente a temperaturas inferiores a -150°C para garantir a preservação da integridade celular, ou avançar para o passo 3 se for necessária uma cultura imediata.
3. Para uma cultura imediata, descongelar rapidamente o frasco imergindo-o num banho de água a 37°C com água limpa e um agente antimicrobiano, agitando suavemente durante 40-60 segundos até ficar um pequeno aglomerado de gelo.
4. Efetuar todos os passos subsequentes em condições estéreis numa capela de fluxo, desinfectando o frasco criogénico com etanol a 70% antes de o abrir.
5. Abrir cuidadosamente o frasco desinfectado e transferir a suspensão de células para um tubo de centrifugação de 15 ml contendo 8 ml de meio de cultura à temperatura ambiente, misturando suavemente.
6. Centrifugar a mistura a $300 \times g$ durante 3 minutos para separar as células e eliminar cuidadosamente o sobrenadante que contém o meio de congelação residual.
7. Ressuspender suavemente o pellet de células em 10 ml de meio de cultura fresco. No caso de células aderentes, dividir a suspensão entre dois frascos de cultura T25; no caso de culturas em suspensão, transferir todo o meio para um frasco T25 para promover uma interação e um crescimento eficazes das células.
8. Cumprir os protocolos de subcultura estabelecidos para o crescimento e manutenção contínuos da linha celular, garantindo resultados experimentais fiáveis.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , atmosfera humidificada.

Flask Coating

Para uma fixação e viabilidade óptimas após a descongelação, recomendamos a utilização de **frascos ou placas revestidos com colagénio**.

Freezing Procedure

As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente -78°C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

Células PK-15 | 607426

Shipping Conditions

As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente -78 °C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

Storage Conditions

Para conservação a longo prazo, colocar os frascos em azoto líquido em fase de vapor a uma temperatura entre -150 e -196 °C. O armazenamento a -80 °C é aceitável apenas como um curto passo intermédio antes da transferência para azoto líquido.

Controlo de qualidade / Perfil genético / HLA

Sterility

A contaminação por micoplasma é excluída utilizando ensaios baseados em PCR e métodos de deteção de micoplasma baseados em luminescência.

Para garantir que não há contaminação bacteriana, fúngica ou de leveduras, as culturas de células são sujeitas a inspecções visuais diárias.

Perfil STR

Amelogenin: x,x