

Celule PK-15 | 607426

Informații generale

Description

Linia celulară PK(15), derivată din PK-2A, o linie celulară stabilită în 1955 din rinichiul unui porc adult, este infectată cu oncovirusul porcin de tip C (cunoscut anterior sub denumirea de retrovirus endogen porcin, PERV), care este clasificat ca agent din grupul de risc 2. Genomul celei gazdă conține 62 de copii ale genei *pol*, care codifică transcriptaza inversă și alte proteine.

Inițial, particulele virale produse de linia celulară PK(15) au fost descrise ca fiind defectuoase și neinfecțioase pentru o serie de linii celulare de mamifere, inclusiv o linie celulară umană, ceea ce a condus la clasificarea acestora ca linie celulară din grupul de risc 1. Cu toate acestea, studii ulterioare au demonstrat că celulele umane 293 pot fi infectate în mod productiv de către supernatantul fără celule al celulelor PK(15). Această constatare a dus la reclasificarea liniei celulare PK(15) de către Comisia centrală germană pentru siguranță biologică (ZKBS) în noiembrie 2018.

Analizele PCR au arătat că virusurile transmise aparțineau subtipurilor politropice PERV-A și PERV-B. În plus, s-a observat că particulele virale produse de celulele 293 erau rezistente la inactivarea de către sistemul complementului uman.

În plus față de semnificația sa virusologică, linia celulară PK(15) servește, de asemenea, ca gazdă adecvată pentru aplicațiile de transfecție. Datorită proprietăților sale de creștere aderentă, aceasta este extrem de valoroasă în diverse contexte de cercetare și experimentale.

Organism Porc

Tissue Rinichi

Synonyms PK(15), PK (15), PK 15, PK15, rinichi porcin-15

Caracteristici

Breed/Subspecies Hampshire

Age Adult

Gender Masculin

Morphology De tip epitelial

Growth properties Monostrat, aderent

Date de reglementare

Celule PK-15 | 607426

Citation PK-15 (număr de catalog Cytion 607426)

Biosafety level

Nivel de biosecuritate 1.

Linia celulară adăpostește secvențe de oncovirus porcin de tip C (PCOV) și transcriptele acestora, iar posibilitatea secreției virale nu poate fi exclusă. În Germania, acești virusi sunt clasificați ca BSL 1 pentru oameni și BSL 2 pentru animale (TRBA 462). Cu toate acestea, Comitetul central german pentru siguranță biologică (ZKBS) atribuie o clasificare BSL 2 acestor virusuri și liniilor celulare infectate atunci când sunt utilizate în scopuri de modificare genetică.

NCBI_TaxID 9823

CellosaurusAccession CVCL_2160

Date biomoleculare

Viruses PCV1 (Circovirus porcin 1) pozitiv, PCV2 negativ, PCV3 negativ

Virus susceptibility Holera porcină, pesta porcină africană, exantemul vezicular al porcului, febra aftoasă (FMDV), stomatita veziculară (Indiana), vaccinia, reovirus 2, 3, adenovirus 4, 5, coxsackievirus B2, B3, B4, B5, B6

Virus resistance Poliovirus 2

Reverse transcriptase Pozitiv

Manipulare

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

Supplements Suplimentați mediul cu 10% FBS și 1% NEAA

Dissociation Reagent Accutase

Celule PK-15 | 607426

Subculturing Îndepărtați mediul vechi de pe celulele aderente și spălați-le cu PBS care nu conține calciu și magneziu. Pentru flacoanele T25, se utilizează 3-5 ml de PBS, iar pentru flacoanele T75, 5-10 ml. Apoi, se acoperă celulele complet cu Accutase, folosind 1-2 ml pentru flacoanele T25 și 2,5 ml pentru flacoanele T75. Lăsați celulele la incubare la temperatura camerei timp de 8-10 minute pentru a le detașa. După incubare, amestecați ușor celulele cu 10 ml de mediu pentru a le resuspenda, apoi centrifugați la 300xg timp de 3 minute. Aruncați supernatantul, resuspendați celulele în mediu proaspăt și transferați-le în flacoane noi care conțin deja mediu proaspăt.

Split ratio Se recomandă un raport de 1:2 până la 1:4

Seeding density 2×10^4 celule/cm²

Fluid renewal de 2 până la 3 ori pe săptămână

Post-Thaw Recovery Lăsați celulele să se refacă după procesul de congelare timp de cel puțin 24 până la 48 de ore.

Freeze medium Ca mediu de crioconservare, utilizați mediul de creștere complet (inclusiv FBS) + 10% DMSO pentru o viabilitate adecvată după dezghețare sau CM-1 (număr de catalog Cytion 800100), care include osmoprotectanți optimizați și stabilizatori metabolici pentru a spori recuperarea și a reduce stresul indus de crioconservare.

Celule PK-15 | 607426

Thawing and Culturing Cells

1. Confirmați că flaconul rămâne profund înghețat la livrare, deoarece celulele sunt expediate pe gheață carbonică pentru a menține temperaturi optime în timpul transportului.
2. La primire, fie depozitați crioviola imediat la temperaturi sub -150 °C pentru a asigura păstrarea integrității celulare, fie treceți la etapa 3 dacă este necesară cultivarea imediată.
3. Pentru cultivarea imediată, dezghețați rapid flaconul prin scufundarea acestuia într-o baie de apă la 37 °C cu apă curată și un agent antimicrobian, agitându-l ușor timp de 40-60 de secunde până când rămâne o mică aglomerare de gheață.
4. Se efectuează toate etapele ulterioare în condiții sterile, într-o hotă cu flux, dezinfectând crioviola cu etanol 70% înainte de deschidere.
5. Se deschide cu grijă flaconul dezinfectat și se transferă suspensia celulară într-un tub de centrifugare de 15 ml care conține 8 ml de mediu de cultură la temperatura camerei, amestecând ușor.
6. Se centrifughează amestecul la 300 x g timp de 3 minute pentru a separa celulele și se aruncă cu grijă supernatantul care conține mediul de congelare rezidual.
7. Se resuspendă ușor peletul celular în 10 ml de mediu de cultură proaspăt. Pentru celulele aderente, împărțiți suspensia între două flacoane de cultură T25; pentru culturile în suspensie, transferați tot mediul într-un flacon T25 pentru a promova interacțiunea și creșterea celulară eficientă.
8. Respectați protocoalele de subcultură stabilite pentru creșterea și menținerea continuă a liniei celulare, asigurând rezultate experimentale fiabile.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO_2 , atmosferă umidificată.

Flask Coating

Pentru atașare optimă și viabilitate după decongelare, vă recomandăm să utilizați **flacoane sau plăci acoperite cu colagen**.

Freezing Procedure

Liniile celulare crioconservate sunt expediate pe gheață carbonică în ambalaje izolate, validate, cu suficient agent frigorific pentru a menține aproximativ -78 °C pe toată durata transportului. La primire, se inspectează imediat recipientul și se transferă fără întârziere fiolele în depozitul corespunzător.

Celule PK-15 | 607426

Shipping Conditions

Liniiile celulare crioconservate sunt expediate pe gheață carbonică în ambalaje izolate, validate, cu suficient agent frigorific pentru a menține aproximativ -78 °C pe toată durata transportului. La primire, se inspectează imediat recipientul și se transferă fără întârziere fiolele în depozitul corespunzător.

Storage Conditions

Pentru conservarea pe termen lung, flacoanele se plasează în azot lichid în fază de vapori la o temperatură cuprinsă între -150 și -196 °C. Păstrarea la -80 °C este acceptabilă doar ca o scurtă etapă intermediară înainte de transferul în azot lichid.

Controlul calității / Profil genetic / HLA

Sterility

Contaminarea cu micoplasmă este exclusă utilizând atât teste bazate pe PCR, cât și metode de detectare a micoplasmei bazate pe luminescență.

Pentru a se asigura că nu există contaminare bacteriană, fungică sau de drojdie, culturile celulare sunt supuse unor inspecții vizuale zilnice.

Profilul STR

Amelogenin: x,x