

PK-15-celler | 607426

Allmän information

Description

PK(15)-cellinjen, som härrör från PK-2A, en cellinje som etablerades 1955 från njuren hos en vuxen gris, är infekterad med porcint oncovirus typ C (tidigare känt som porcint endogent retrovirus, PERV), som klassificeras som ett riskgrupp 2-agens. Vårdcellens genom innehåller 62 kopior av genen *pol*, som kodar för omvänt transkriptas och andra proteiner.

Ursprungligen beskrevs de viruspartiklar som producerades av PK(15)-cellinjen som defekta och icke-infektiösa för en rad olika cellinjer från däggdjur, inklusive en human cellinje, vilket ledde till att den klassificerades som en cellinje i riskgrupp 1. Senare studier visade dock att mänskliga 293-celler kunde infekteras produktivt av den cellfria supernatanten från PK(15)-celler. Detta ledde till att PK(15)-cellinjen omklassificerades av den tyska centralkommissionen för biosäkerhet (ZKBS) i november 2018.

PCR-analyser visade att de överförda virusen tillhörde de polytropiska subtyperna PERV-A och PERV-B. Dessutom observerades att de viruspartiklar som producerades av 293-cellerna var resistent mot inaktivering av det mänskliga komplementsystemet.

Förutom sin virologiska betydelse fungerar PK(15)-cellinjen också som en lämplig värd för transfektionsapplikationer. På grund av sina adherenta tillväxtegenskaper är den mycket värdefull i olika forsknings- och försöksmiljöer.

Organism Gris

Tissue Njurar

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

Egenskaper

Breed/Subspecies Hampshire

Age Vuxen

Gender Man

Morphology Epitelliknande

Growth properties Monolager, vidhäftande

Lagstadgade uppgifter

Citation PK-15 (Cytion katalognummer 607426)

PK-15-celler | 607426

Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9823
CellosaurusAccession	CVCL_2160

Biomolekylära data

Viruses	PCV1 (Porcine circovirus 1) positiv, PCV2 negativ, PCV3 negativ
Virus susceptibility	Svinpest, afrikansk svinpest, vesikulärt exantem hos svin, mul- och klövsjuka (FMDV), vesikulär stomatit (Indiana), vaccinia, reovirus 2, 3, adenovirus 4, 5, coxsackievirus B2, B3, B4, B5, B6
Virus resistance	Poliovirus 2
Reverse transcriptase	Positiv

Hantering

Culture Medium	EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamin, w: 2,2 g/L NaHCO ₃ , w: EBSS (Cytion artikelnummer 820100a)
Supplements	Komplettera mediet med 10% FBS och 1% NEAA
Dissociation Reagent	Accutase

Subculturing Ta bort det gamla mediet från de adherenta cellerna och tvätta dem med PBS som saknar kalcium och magnesium. Använd 3-5 ml PBS för T25-kolvar och 5-10 ml för T75-kolvar. Täck sedan cellerna helt med Accutase, använd 1-2 ml för T25-kolvar och 2,5 ml för T75-kolvar. Låt cellerna inkubera i rumstemperatur i 8-10 minuter så att de lossnar. Efter inkubationen, blanda cellerna försiktigt med 10 ml medium för att resuspendera dem och centrifugera sedan vid 300xg i 3 minuter. Kassera supernatanten, resuspendera cellerna i färskt medium och överför dem till nya kolvar som redan innehåller färskt medium.

Split ratio Ett förhållande på 1:2 till 1:4 rekommenderas

Seeding density 2×10^4 celler/cm²

Fluid renewal 2 till 3 gånger per vecka

PK-15-celler | 607426

Post-Thaw Recovery

Låt cellerna återhämta sig från frysningsprocessen i minst 24-48 timmar.

Freeze medium

Som kryokonserveringsmedium använder vi komplett tillväxtmedium (inklusive FBS) + 10% DMSO för adekvat viabilitet efter upptining, eller CM-1 (Cytion katalognummer 800100), som innehåller optimerade osmoprotektanter och metaboliska stabilisatorer för att förbättra återhämtningen och minska kryoinducerad stress.

Thawing and Culturing Cells

1. Bekräfta att flaskan är djupfrys vid leverans, eftersom cellerna skickas på torris för att bibehålla optimala temperaturer under transporten.
2. Vid mottagandet ska du antingen förvara kryovialen omedelbart vid temperaturer under $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ för att säkerställa att cellernas integritet bevaras, eller gå vidare till steg 3 om omedelbar odling krävs.
3. Vid omedelbar odling ska injektionsflaskan snabbt tinas genom att den sänks ned i ett $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ vattenbad med rent vatten och ett antimikrobiellt medel och omrörs försiktigt i 40-60 sekunder tills en liten isklump återstår.
4. Utför alla efterföljande steg under sterila förhållanden i en flödeshuv och desinficera kryovialerna med 70 % etanol innan de öppnas.
5. Öppna försiktigt den desinficerade flaskan och överför cellsuspensionen till ett 15 ml centrifugrör som innehåller 8 ml rumstempererat odlingsmedium och blanda försiktigt.
6. Centrifugera blandningen vid $300 \times g$ i 3 minuter för att separera cellerna och kassera försiktigt supernatanten som innehåller resterande frysmedium.
7. Resuspendera försiktigt cellpelleten i 10 ml färskt odlingsmedium. För adherenta celler, fördela suspensionen mellan två T25-kulturkolvar; för suspensionskulturer, överför allt medium till en T25-kolv för att främja effektiv cellinteraktion och tillväxt.
8. Följ fastställda subkulturprotokoll för fortsatt tillväxt och underhåll av cellinjen, vilket säkerställer tillförlitliga experimentella resultat.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , befuktad atmosfär.

Flask Coating

Ingen

PK-15-celler | 607426

Freezing Procedure

Kryopreserverade cellinjer skickas på torris i validerade, isolerade förpackningar med tillräckligt med kylmedel för att hålla cirka -78 °C under hela transporten. Vid mottagandet ska behållaren omedelbart inspekteras och flaskorna utan dröjsmål överförs till lämplig förvaring.

Shipping Conditions

Kryopreserverade cellinjer skickas på torris i validerade, isolerade förpackningar med tillräckligt med kylmedel för att hålla cirka -78 °C under hela transporten. Vid mottagandet ska behållaren omedelbart inspekteras och flaskorna utan dröjsmål överförs till lämplig förvaring.

Storage Conditions

För långtidsförvaring, placera flaskorna i flytande kväve i ångfas vid ca -150 till -196 °C. Förvaring vid -80 °C är acceptabelt endast som ett kort mellanliggande steg innan överföring till flytande kväve.

Kvalitetskontroll / Genetisk profil / HLA

Sterility

Mykoplasmakontaminering utesluts med hjälp av både PCR-baserade analyser och luminiscensbaserade metoder för mykoplasmadiagnostik.

För att säkerställa att det inte finns någon kontaminering av bakterier, svamp eller jäst utsätts cellkulturerna för dagliga visuella inspektioner.

STR-profil

Amelogenin: x,x