

Tế bào PK-15 | 607426

Thông tin chung

Description

Dòng tế bào PK(15), được phân lập từ dòng tế bào PK-2A (được thiết lập vào năm 1955 từ thận của một con lợn trưởng thành), bị nhiễm virus oncovirus loại C của lợn (trước đây được gọi là virus retrovirus nội sinh của lợn, PERV), được phân loại là tác nhân nhóm nguy cơ 2. Genome của tế bào chủ chứa 62 bản sao của gen *pol*, mã hóa cho enzyme reverse transcriptase và các protein khác.

Ban đầu, các hạt virus được sản xuất bởi dòng tế bào PK(15) được mô tả là bị khiếm khuyết và không lây nhiễm đối với nhiều dòng tế bào động vật có vú, bao gồm cả dòng tế bào người, dẫn đến việc phân loại nó là dòng tế bào nhóm nguy cơ 1. Tuy nhiên, các nghiên cứu sau đó đã chứng minh rằng các tế bào người 293 có thể bị nhiễm trùng một cách hiệu quả bởi dịch siêu vi không tế bào của các tế bào PK(15). Phát hiện này đã dẫn đến việc tái phân loại dòng tế bào PK(15) bởi Ủy ban Trung ương về An toàn Sinh học của Đức (ZKBS) vào tháng 11 năm 2018.

Phân tích PCR cho thấy các virus được truyền thuộc các phân nhóm đa hình PERV-A và PERV-B. Ngoài ra, người ta quan sát thấy các hạt virus do tế bào 293 sản xuất có khả năng kháng lại quá trình bất hoạt bởi hệ thống bổ thể của người.

Ngoài ý nghĩa vi sinh học, dòng tế bào PK(15) còn là vật chủ phù hợp cho các ứng dụng chuyển gen. Nhờ đặc tính phát triển bám dính, nó có giá trị cao trong nhiều môi trường nghiên cứu và thí nghiệm.

Organism Heo

Tissue Thận

Synonyms PK(15), PK (15), PK 15, PK15, Thận lợn-15

Đặc điểm

Breed/Subspecies Hampshire

Age Người lớn

Gender Nam

Morphology Tương tự biểu mô

Growth properties Lớp đơn, bám dính

Dữ liệu quy định

Citation PK-15 (Số catalog Cytion 607426)

Tế bào PK-15 | 607426**Biosafety level**

Cấp độ an toàn sinh học 1.

Dòng tế bào chứa các trình tự gen và bản sao mRNA của virus ung thư lợn loại C (PCOV), và khả năng tiết virus không thể loại trừ. Tại Đức, các virus này được phân loại là BSL 1 đối với con người và BSL 2 đối với động vật (TRBA 462). Tuy nhiên, Ủy ban Trung ương về An toàn Sinh học của Đức (ZKBS) phân loại các virus này và các dòng tế bào bị nhiễm virus là BSL 2 khi được sử dụng cho mục đích biến đổi gen.

NCBI_TaxID

9823

CellosaurusAccession

CVCL_2160

Dữ liệu sinh học phân tử**Viruses**

PCV1 (Vi-rút vòng lợn 1) dương tính, PCV2 âm tính, PCV3 âm tính

Virus susceptibility

Dịch tả lợn, Dịch tả lợn châu Phi, Bệnh phát ban mụn nước ở lợn, Bệnh lở mồm long móng (FMDV), Bệnh viêm miệng mụn nước (Indiana), Vaccinia, Reovirus 2, 3, Adenovirus 4, 5, Coxsackievirus B2, B3, B4, B5, B6

Virus resistance

Vi-rút polio type 2

Reverse transcriptase

Tích cực

Xử lý**Culture Medium**

EMEM (MEM Eagle), chứa: 2 mM L-Glutamine, chứa: 2,2 g/L NaHCO₃, chứa: EBSS (Số hiệu sản phẩm Cytion 820100a)

Supplements

Bổ sung vào môi trường nuôi cấy 10% huyết thanh bò phôi (FBS) và 1% NEAA

Dissociation Reagent

Accutase

Subculturing

Loại bỏ môi trường nuôi cấy cũ khỏi các tế bào bám dính và rửa chúng bằng PBS không chứa canxi và magiê. Đối với bình T25, sử dụng 3-5 ml PBS, và đối với bình T75, sử dụng 5-10 ml. Sau đó, phủ hoàn toàn các tế bào bằng Accutase, sử dụng 1-2 ml cho bình T25 và 2,5 ml cho bình T75. Để tế bào ủ ở nhiệt độ phòng trong 8-10 phút để tách chúng ra. Sau khi ủ, nhẹ nhàng trộn tế bào với 10 ml môi trường để tái phân tán chúng, sau đó ly tâm ở 300xg trong 3 phút. Loại bỏ dịch trên, tái phân tán tế bào trong môi trường tươi và chuyển chúng vào các bình mới đã chứa môi trường tươi.

Split ratio

Tỷ lệ khuyến nghị là từ 1:2 đến 1:4

Tế bào PK-15 | 607426

Seeding density 2×10^4 tế bào/cm²

Fluid renewal 2 đến 3 lần mỗi tuần

Post-Thaw Recovery Cho phép các tế bào phục hồi sau quá trình đông lạnh trong ít nhất 24 đến 48 giờ.

Freeze medium Như một môi trường bảo quản đông lạnh, sử dụng môi trường tăng trưởng hoàn chỉnh (bao gồm FBS) + 10% DMSO để đảm bảo độ sống sau khi rã đông, hoặc CM-1 (mã sản phẩm Cytion 800100), chứa các chất bảo vệ thẩm thấu và chất ổn định chuyển hóa được tối ưu hóa để cải thiện quá trình phục hồi và giảm stress do đông lạnh gây ra.

Thawing and Culturing Cells

1. Xác nhận rằng ống nghiệm vẫn được đông lạnh sâu khi giao hàng, vì tế bào được vận chuyển trên đá khô để duy trì nhiệt độ tối ưu trong quá trình vận chuyển.
2. Khi nhận hàng, hãy bảo quản ống nghiệm đông lạnh ngay lập tức ở nhiệt độ dưới -150°C để đảm bảo tính toàn vẹn của tế bào, hoặc tiến hành bước 3 nếu cần nuôi cấy ngay lập tức.
3. Để nuôi cấy ngay lập tức, hãy rã đông ống nghiệm nhanh chóng bằng cách ngâm nó trong bồn nước 37°C với nước sạch và chất kháng khuẩn, khuấy nhẹ trong 40-60 giây cho đến khi còn lại một khối băng nhỏ.
4. Thực hiện tất cả các bước tiếp theo trong điều kiện vô trùng trong tủ hút khí, khử trùng ống cryovial bằng cồn 70% trước khi mở.
5. Mở ống đã khử trùng một cách cẩn thận và chuyển hỗn hợp tế bào vào ống ly tâm 15 ml chứa 8 ml môi trường nuôi cấy ở nhiệt độ phòng, khuấy nhẹ.
6. Ly tâm hỗn hợp ở 300 x g trong 3 phút để tách tế bào và cẩn thận loại bỏ dịch siêu âm chứa môi trường đông lạnh còn lại.
7. Nhẹ nhàng hòa tan lại khối tế bào trong 10 ml môi trường nuôi cấy tươi. Đối với tế bào bám dính, chia hỗn hợp vào hai bình nuôi cấy T25; đối với tế bào nuôi cấy lơ lửng, chuyển toàn bộ môi trường vào một bình T25 để thúc đẩy tương tác và phát triển tế bào hiệu quả.
8. Tuân thủ các quy trình nuôi cấy con được thiết lập để duy trì sự phát triển và bảo quản dòng tế bào, đảm bảo kết quả thí nghiệm đáng tin cậy.

Incubation Atmosphere 37°C, 5% CO₂, môi trường ẩm.

Tế bào PK-15 | 607426

Flask Coating

Để đạt được độ bám dính và khả năng sống sót tối ưu sau khi rã đông, chúng tôi khuyến nghị sử dụng **các ống nghiệm hoặc đĩa được phủ collagen**.

Freezing Procedure

Các dòng tế bào được bảo quản bằng phương pháp đông lạnh được vận chuyển trên đá khô trong bao bì cách nhiệt đã được kiểm định, kèm theo lượng chất làm lạnh đủ để duy trì nhiệt độ khoảng -78°C trong suốt quá trình vận chuyển. Khi nhận hàng, hãy kiểm tra ngay lập tức bao bì và chuyển các ống nghiệm sang nơi lưu trữ phù hợp mà không chậm trễ.

Shipping Conditions

Các dòng tế bào được bảo quản bằng phương pháp đông lạnh được vận chuyển trên đá khô trong bao bì cách nhiệt đã được kiểm định, kèm theo lượng chất làm lạnh đủ để duy trì nhiệt độ khoảng -78°C trong suốt quá trình vận chuyển. Khi nhận hàng, hãy kiểm tra ngay lập tức bao bì và chuyển các ống nghiệm sang nơi lưu trữ phù hợp mà không chậm trễ.

Storage Conditions

Để bảo quản lâu dài, hãy đặt ống nghiệm vào nitơ lỏng ở pha hơi ở nhiệt độ khoảng -150 đến -196°C . Việc bảo quản ở -80°C chỉ được chấp nhận như một bước trung gian ngắn hạn trước khi chuyển sang nitơ lỏng.

Kiểm soát chất lượng / Hồ sơ di truyền / HLA

Sterility

Sự nhiễm khuẩn Mycoplasma được loại trừ bằng cả các phương pháp xét nghiệm dựa trên PCR và các phương pháp phát hiện Mycoplasma dựa trên phát quang.

Để đảm bảo không có nhiễm khuẩn vi khuẩn, nấm hoặc men, các mẫu nuôi cấy tế bào được kiểm tra trực quan hàng ngày.

Hồ sơ STR

Amelogenin: x,x