

## Клетки РК-15 | 607426

## Обща информация

## Description

Клетъчната линия РК(15), получена от РК-2А, клетъчна линия, създадена през 1955 г. от бъбрек на възрастно прасе, е заразена със свински онковирус тип С (известен преди като свински ендогенен ретровирус, PERV), който е класифициран като агент от рисковата група 2. Геномът на клетката гостоприемник съдържа 62 копия на гена \*pol\*, който кодира обратна транскриптаза и други протеини.

Първоначално вирусните частици, произведени от клетъчната линия РК(15), са описани като дефектни и незаразяващи различни клетъчни линии на бозайници, включително човешка клетъчна линия, което води до класифицирането ѝ като клетъчна линия от рисковата група 1. Въпреки това, последващи изследвания показват, че човешки 293 клетки могат да бъдат продуктивно заразени от безклетъчната супернатанта на РК(15) клетки. Това откритие доведе до прекласифициране на клетъчната линия РК(15) от Германската централна комисия по биологична безопасност (ZKBS) през ноември 2018 г.

PCR анализите разкриха, че пренесените вируси принадлежат към политропните подтипове PERV-A и PERV-B. Освен това е наблюдавано, че вирусните частици, произведени от клетки 293, са устойчиви на инактивиране от човешката система на комплемента.

В допълнение към вирусологичната си значимост клетъчната линия РК(15) служи и като подходящ гостоприемник за приложения за трансфекция. Поради свойствата си на адхезивен растеж тя е изключително ценна в различни изследователски и експериментални среди.

**Organism** Свиня

**Tissue** Бъбреци

**Synonyms** РК(15), РК (15), РК 15, РК15, Свински бъбрек-15

## Характеристики

**Breed/Subspecies** Хемпшир

**Age** Възрастни

**Gender** Мъжки

**Morphology** Подобни на епител

**Growth properties** Монослой, прилепнал

## Регулаторни данни

## Клетки PK-15 | 607426

**Citation** PK-15 (каталожен номер 607426 на Cytion)

**Biosafety level**

Ниво на биологична безопасност 1.

Клетъчната линия съдържа секвенции на свински онковирус тип С (PCOV) и техните транскрипти, като не може да се изключи възможността за отделяне на вируси. В Германия тези вируси са категоризирани като BSL 1 за хора и BSL 2 за животни (TRBA 462). Въпреки това Германският централен комитет по биологична безопасност (ZKBS) класифицира тези вируси и заразени клетъчни линии като BSL 2, когато се използват за целите на генетичното модифициране.

**NCBI\_TaxID** 9823

**CellosaurusAccession** CVCL\_2160

**Биомолекулярни данни**

**Viruses** PCV1 (Свински цирковирус 1) положителен, PCV2 отрицателен, PCV3 отрицателен

**Virus susceptibility** Холера по свинете, африканска чума по свинете, везикуларна екзантема по свинете, шап (FMDV), везикуларен стоматит (Indiana), ваксина, реовирус 2, 3, аденовирус 4, 5, коксакивирус B2, B3, B4, B5, B6

**Virus resistance** Полиовирус 2

**Reverse transcriptase** Положителен

**Работа с**

**Culture Medium** EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamine, w: 2,2 g/L NaHCO<sub>3</sub>, w: EBSS (номер на статията в Cytion 820100a)

**Supplements** Допълнете средата с 10% FBS и 1% NEAA

**Dissociation Reagent** Accutase

**Клетки PK-15 | 607426**

**Subculturing** Отстранете старата среда от адхезивните клетки и ги промийте с PBS, която не съдържа калций и магнезий. За колби T25 използвайте 3-5 ml PBS, а за колби T75 - 5-10 ml. След това покрийте клетките изцяло с Accutase, като използвате 1-2 ml за колби T25 и 2,5 ml за колби T75. Оставете клетките да се инкубират на стайна температура за 8-10 минути, за да се отделят. След инкубацията внимателно разбъркайте клетките с 10 ml среда, за да ги ресуспендирате, след което центрофугирайте при 300xg за 3 минути. Изхвърлете супернатантата, ресуспендирайте клетките в прясна среда и ги прехвърлете в нови колби, които вече съдържат прясна среда.

**Split ratio** Препоръчва се съотношение от 1:2 до 1:4

**Seeding density**  $2 \times 10^4$  клетки/cm<sup>2</sup>

**Fluid renewal** 2 до 3 пъти седмично

**Post-Thaw Recovery** Оставете клетките да се възстановят от процеса на замразяване за поне 24-48 часа.

**Freeze medium** Като среда за криоконсервация използвайте пълна среда за растеж (включително FBS) + 10% DMSO за адекватна жизнеспособност след размразяване или CM-1 (каталожен номер 800100 на Cytion), която включва оптимизирани осмопротектори и метаболитни стабилизатори за подобряване на възстановяването и намаляване на криоиндуцирания стрес.

## Клетки PK-15 | 607426

**Thawing and  
Culturing Cells**

1. Уверете се, че флаконът остава дълбоко замразен при доставката, тъй като клетките се транспортират със сух лед, за да се поддържат оптимални температури по време на транспортирането.
2. При получаване или съхранявайте незабавно криовиолата при температури под  $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ , за да осигурите запазване на клетъчната цялост, или преминете към стъпка 3, ако е необходимо незабавно култивиране.
3. За незабавно култивиране бързо размразете флакона, като го потопите във водна баня с чиста вода и антимикуробен агент с температура  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ , като разбърквате внимателно в продължение на 40-60 секунди, докато остане малка ледена бучка.
4. Извършвайте всички следващи стъпки при стерилни условия в аспиратор, като преди отваряне дезинфекцирате криовиолата със 70% етанол.
5. Внимателно отворете дезинфекцирания флакон и прехвърлете клетъчната суспензия в 15 ml центрофужна епруветка, съдържаща 8 ml хранителна среда със стайна температура, като разбърквате внимателно.
6. Центрофугирайте сместа при 300 x g в продължение на 3 минути, за да отделите клетките, и внимателно изхвърлете супернатантата, съдържаща остатъчна замразяваща среда.
7. Внимателно ресуспендирайте клетъчната пелета в 10 ml прясна хранителна среда. За адхезивни клетки разделете суспензията между две колби T25; за суспензионни култури прехвърлете цялата среда в една колба T25, за да стимулирате ефективното взаимодействие и растеж на клетките.
8. Придържайте се към установените протоколи за субкултивиране за непрекъснат растеж и поддържане на клетъчната линия, като гарантирате надеждни експериментални резултати.

**Incubation  
Atmosphere**

$37^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , овлажнена атмосфера.

**Flask Coating**

За оптимално прикрепване и жизнеспособност след размразяване препоръчваме да се използват **колби или плаки с колагеново покритие**.

**Freezing  
Procedure**

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$  по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

## Клетки PK-15 | 607426

### Shipping Conditions

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително  $-78^{\circ}\text{C}$  по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

### Storage Conditions

За дълготрайно съхранение поставете флаконите в течен азот в парна фаза при температура около  $-150$  до  $-196^{\circ}\text{C}$ . Съхранението при  $-80^{\circ}\text{C}$  е приемливо само като кратък междинен етап преди прехвърлянето в течен азот.

## Контрол на качеството / Генетичен профил / HLA

### Sterility

Замърсяването с микоплазма се изключва както чрез PCR-базиран анализ, така и чрез луминесцентни методи за откриване на микоплазма.

За да се гарантира, че няма бактериално, гъбично или дрождево замърсяване, клетъчните култури се подлагат на ежедневни визуални проверки.

### Профил на STR

**Amelogenin:** x,x