Product sheet

Клетки PK-15 | 607426

Обща информация

Description	Клетъчната линия PK(15), получена от PK-2A, клетъчна линия, създадена през 1955 г. от бъбрек на възрастно прасе, е заразена със свински онковирус тип C (известен преди като свински ендогенен ретровирус, PERV), който е класифициран като агент от рискова 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 PK(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 рискова група 1. Въпреки това, последващи изследвания показват, че човешки 293 клетки могат да бъдат продуктивно заразени от безклетъчната супернатанта на PK(15) клетки. Това откритие доведе до прекласифициране на клетъчната линия PK(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 PK(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	PK(15), PK (15), PK 15, PK15, 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	1
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 NaHCO3, w: EBSS (номер на статията в Cytion 820100a)
Supplements	Допълнете средата с 10% FBS и 1% NEAA
Dissociation Reagent	Accutase
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.
Seeding density	2×10^4 клетки/см2
Fluid renewal	2 до 3 пъти седмично

Клетки PK-15 | 607426

Post-Thaw Recovery	Оставете клетките да се възстановят от процеса на замразяване за поне 24-48 часа.
Freeze medium	Като среда за криоконсервация използваме 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.

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 °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 антимикробен агент с температура 37 °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 разбъркате 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°C, 5%$_{CO2}$, овлажнена атмосфера.

Клетки PK-15 | 607426

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 °C по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.
Shipping Conditions	Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително -78 °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 °C. Съхранението при -80 °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-базирани анализи, 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.