

Buňky PK-15 | 607426

Obecné informace

Description

Buněčná linie PK(15), odvozená z buněčné linie PK-2A, která byla vytvořena v roce 1955 z ledvin dospělého prasete, je infikována prasečím onkovirem typu C (dříve známým jako prasečí endogenní retrovirus, PERV), který je klasifikován jako původce rizikové skupiny 2. Genom hostitelské buňky obsahuje 62 kopií genu *pol*, který kóduje reverzní transkriptázu a další proteiny.

Původně byly virové částice produkované buněčnou linií PK(15) popsány jako defektní a neinfekční pro různé buněčné linie savců, včetně lidské buněčné linie, což vedlo k jejímu zařazení do rizikové skupiny 1. Následné studie však prokázaly, že lidské buňky 293 mohou být produktivně infikovány bezbuněčným supernatantem buněk PK(15). Toto zjištění vedlo k tomu, že Německá ústřední komise pro biologickou bezpečnost (ZKBS) v listopadu 2018 buněčnou linii PK(15) překlasifikovala.

Analýzy PCR odhalily, že přenesené viry patřily k polytropním podtypům PERV-A a PERV-B. Kromě toho bylo zjištěno, že virové částice produkované buňkami 293 jsou odolné vůči inaktivaci systémem lidského komplementu.

Kromě virologického významu slouží buněčná linie PK(15) také jako vhodný hostitel pro transfekční aplikace. Díky svým adherentním růstovým vlastnostem je velmi cenná v různých výzkumných a experimentálních prostředích.

Organism Prase

Tissue Ledviny

Synonyms PK(15), PK (15), PK 15, PK15, prasečí ledvina-15

Charakteristika

Breed/Subspecies Hampshire

Age Dospělí

Gender Muži

Morphology Epitelu podobné

Growth properties Monovrstva, adherentní

Regulační údaje

Citation PK-15 (katalogové číslo Cytion 607426)

Buňky PK-15 | 607426**Biosafety level**

Úroveň biologické bezpečnosti 1.

Buněčná linie obsahuje sekvence prasečího onkoviru typu C (PCOV) a jejich transkripty a nelze vyloučit možnost vylučování viru. V Německu jsou tyto viry zařazeny do kategorie BSL 1 pro lidi a BSL 2 pro zvířata (TRBA 462). Německý ústřední výbor pro biologickou bezpečnost (ZKBS) však těmto virům a infikovaným buněčným liniím přiřadil klasifikaci BSL 2, pokud jsou používány pro účely genetické modifikace.

NCBI_TaxID 9823

CellosaurusAccession CVCL_2160

Biomolekulární data

Viruses PCV1 (prasečí cirkovirus 1) pozitivní, PCV2 negativní, PCV3 negativní

Virus susceptibility Cholera prasat, africký mor prasat, vezikulární exantém prasat, slintavka a kulhavka (FMDV), vezikulární stomatitida (Indiana), vakcína, reovirus 2, 3, adenovirus 4, 5, coxsackievirus B2, B3, B4, B5, B6

Virus resistance Poliovirus 2

Reverse transcriptase Pozitivní

Zpracování

Culture Medium EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamin, w: 2,2 g/l NaHCO₃, w: EBSS (číslo článku Cytion 820100a)

Supplements Doplněte médium o 10 % FBS a 1 % NEAA

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Odstraňte staré médium z adherovaných buněk a promyjte je PBS bez vápníku a hořčičku. Pro baňky T25 použijte 3-5 ml PBS a pro baňky T75 5-10 ml. Poté buňky zcela zakryjte přípravkem Accutase, přičemž použijte 1-2 ml pro baňky T25 a 2,5 ml pro baňky T75. Nechte buňky inkubovat při pokojové teplotě po dobu 8-10 minut, aby se oddělily. Po inkubaci jemně promíchejte buňky s 10 ml média, aby byly znovu suspendovány, a poté je odstředte při 300xg po dobu 3 minut. Supernatant vyhodte, buňky znovu rozpustte v čerstvém médiu a přeneste je do nových baněk, které již obsahují čerstvé médium.

Buňky PK-15 | 607426**Split ratio** Doporučuje se poměr 1:2 až 1:4**Seeding density** 2×10^4 buněk/cm²**Fluid renewal** 2 až 3krát týdně**Post-Thaw Recovery** Nechte buňky po zmrazení alespoň 24 až 48 hodin zotavit.**Freeze medium** Jako kryokonzervační médium použijte kompletní růstové médium (včetně FBS) + 10 % DMSO pro zajištění dostatečné životaschopnosti po rozmrazení nebo CM-1 (katalogové číslo 800100 společnosti Cytion), které obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory pro zlepšení regenerace a snížení stresu vyvolaného kryo.**Thawing and Culturing Cells**

1. Ověřte si, že lahvička zůstane při dodání hluboce zmrazená, protože buňky se přepravují na suchém ledu, aby se během přepravy udržely optimální teploty.
2. Po obdržení kryovialku buď okamžitě uložte při teplotě nižší než -150 °C, abyste zajistili zachování buněčné integrity, nebo přejděte ke kroku 3, pokud je nutná okamžitá kultivace.
3. Pro okamžitou kultivaci rychle rozmrazte lahvičku ponořením do vodní lázně o teplotě 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálním prostředkem a jemně ji míchejte po dobu 40-60 sekund, dokud nezůstane malý ledový chuchvalec.
4. Všechny další kroky provádějte za sterilních podmínek v průtokové digestoři a před otevřením kryovialku dezinfikujte 70% ethanolem.
5. Opatrně otevřete dezinfikovanou lahvičku a přeneste buněčnou suspenzi do 15 ml centrifugační zkumavky obsahující 8 ml kultivačního média o pokojové teplotě a jemně promíchejte.
6. Směs odstředujte při 300 x g po dobu 3 minut, aby se buňky oddělily, a supernatant obsahující zbytky mrazicího média opatrně zlikvidujte.
7. Pelety buněk jemně resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačního média. U adherentních buněk rozdělte suspenzi mezi dvě kultivační baňky T25; u suspenzních kultur přeneste veškeré médium do jedné baňky T25, abyste podpořili účinnou interakci a růst buněk.
8. Dodržujte zavedené subkultivační protokoly pro kontinuální růst a udržování buněčné linie, čímž zajistíte spolehlivé výsledky experimentů.

Buňky PK-15 | 607426

Incubation Atmosphere 37 °C, 5 %_{CO2}, zvlhčená atmosféra.

Flask Coating Pro optimální uchycení a životaschopnost po rozmrazení doporučujeme používat **baňky nebo destičky potažené kolagenem**.

Freezing Procedure Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

Shipping Conditions Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

Storage Conditions Pro dlouhodobé uchování umístěte lahvičky do kapalného dusíku v plynné fázi při teplotě přibližně -150 až -196 °C. Skladování při -80 °C je přijatelné pouze jako krátký přechodný krok před přemístěním do kapalného dusíku.

Kontrola kvality / Genetický profil / HLA

Sterility Kontaminace mykoplazmaty je vyloučena jak pomocí testů založených na PCR, tak pomocí luminiscenčních metod detekce mykoplazmy.

Aby se zajistilo, že nedojde ke kontaminaci bakteriemi, plísněmi nebo kvasinkami, jsou buněčné kultury denně podrobovány vizuálním kontrolám.

Profil STR Amelogenin: x,x