

## PK-15-celler | 607426

## General information

## Description

PK(15)-cellelinjen, som stammer fra PK-2A, en cellelinje, der blev etableret i 1955 fra en voksen gris' nyre, er inficeret med porcin type-C oncovirus (tidligere kendt som porcin endogen retrovirus, PERV), som er klassificeret som en risikogruppe 2-agent. Værtscellens genom indeholder 62 kopier af \*pol\*-genet, som koder for revers transkriptase og andre proteiner.

Oprindeligt blev de viruspartikler, der blev produceret af PK(15)-cellelinjen, beskrevet som defekte og ikke-infektiose for en række forskellige cellelinjer fra pattedyr, herunder en menneskelig cellelinje, hvilket førte til, at den blev klassificeret som en risikogruppe 1-cellelinje. Efterfølgende undersøgelser viste imidlertid, at humane 293-celler kunne inficeres produktivt af den cellefri supernatant fra PK(15)-celler. Dette fund resulterede i en omklassificering af PK(15)-cellelinjen af den tyske centrale kommission for biologisk sikkerhed (ZKBS) i november 2018.

PCR-analyser afslørede, at de overførte vira tilhørte de polytropiske undertyper PERV-A og PERV-B. Derudover blev det observeret, at de viruspartikler, der blev produceret af 293-cellerne, var resistente over for inaktivering af det humane komplementsystem.

Ud over sin virologiske betydning fungerer PK(15)-cellelinjen også som en egnet vært for transfektionsapplikationer. På grund af dens vedhængende vækstegenskaber er den meget værdifuld i forskellige forsknings- og forsøgssammenhænge.

**Organism** Gris

**Tissue** Nyre

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

## Karakteristika

**Breed/Subspecies** Hampshire

**Age** Voksen

**Gender** Mand

**Morphology** Epitel-lignende

**Growth properties** Monolag, klæbende

## Regulatoriske data

## PK-15-celler | 607426

**Citation** PK-15 (Cytion katalognummer 607426)

**Biosafety level**

Biosikkerhedsniveau 1.

Cellelinjen indeholder Porcine type-C oncovirus (PCOV)-sekvenser og deres transkripter, og muligheden for viral udskillelse kan ikke udelukkes. I Tyskland er disse vira kategoriseret som BSL 1 for mennesker og BSL 2 for dyr (TRBA 462). Den tyske centrale komité for biologisk sikkerhed (ZKBS) tildeler dog en BSL 2-klassificering til disse vira og inficerede cellelinjer, når de bruges til genetisk modifikation.

**NCBI\_TaxID** 9823

**CellosaurusAccession** CVCL\_2160

**Biomolekylære data**

**Viruses** PCV1 (Porcine circovirus 1) positiv, PCV2 negativ, PCV3 negativ

**Virus susceptibility** Svinekolera, afrikansk svinepest, vesikulært exanthem hos svin, mund- og klovsyge (FMDV), vesikulær stomatitis (Indiana), vaccinia, reovirus 2, 3, adenovirus 4, 5, coxsackievirus B2, B3, B4, B5, B6

**Virus resistance** Poliovirus 2

**Reverse transcriptase** Positiv

**Håndtering**

**Culture Medium** EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamin, w: 2,2 g/L NaHCO<sub>3</sub>, w: EBSS (Cytion artikelnummer 820100a)

**Supplements** Suppler mediet med 10% FBS og 1% NEAA

**Dissociation Reagent** Accutase

**Subculturing** Fjern det gamle medium fra de klæbende celler, og vask dem med PBS, der ikke indeholder calcium og magnesium. Brug 3-5 ml PBS til T25-kolber og 5-10 ml til T75-kolber. Dæk derefter cellerne helt med Accutase, brug 1-2 ml til T25-kolber og 2,5 ml til T75-kolber. Lad cellerne inkubere ved stuetemperatur i 8-10 minutter for at løsne dem. Efter inkubationen blandes cellerne forsigtigt med 10 ml medium for at resuspendere dem, og centrifugeres derefter ved 300xg i 3 minutter. Kassér supernatanten, resuspender cellerne i frisk medium, og overfør dem til nye kolber, der allerede indeholder frisk medium.

## PK-15-celler | 607426

**Split ratio** Det anbefales at bruge et forhold på 1:2 til 1:4

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

**Fluid renewal** 2 til 3 gange om ugen

**Post-Thaw Recovery** Lad cellerne komme sig efter nedfrysningen i mindst 24 til 48 timer.

**Freeze medium** Som kryopræservationsmedium anvendes komplet vækstmedium (inklusive FBS) + 10 % DMSO for tilstrækkelig levedygtighed efter optøning eller CM-1 (Cytion katalognummer 800100), som indeholder optimerede osmobeskyttende midler og metaboliske stabilisatorer for at øge gendannelsen og reducere kryo-induceret stress.

### Thawing and Culturing Cells

1. Bekræft, at hætteglasset forbliver dybfrosset ved levering, da cellerne sendes på tøris for at opretholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved modtagelsen skal du enten straks opbevare kryohætteglasset ved temperaturer under -150 °C for at sikre, at cellernes integritet bevares, eller gå videre til trin 3, hvis øjeblikkelig dyrkning er påkrævet.
3. Ved øjeblikkelig dyrkning optøs hætteglasset hurtigt ved at nedsænke det i et 37 °C varmt vandbad med rent vand og et antimikrobielt middel og røre forsigtigt i 40-60 sekunder, indtil der kun er en lille isklump tilbage.
4. Udfør alle efterfølgende trin under sterile forhold i en flowhætte, og desinficer kryovialet med 70 % ethanol, før det åbnes.
5. Åbn forsigtigt det desinficerede hætteglas, og overfør cellesuspensionen til et 15 ml centrifugerør, der indeholder 8 ml kulturmedium ved stuetemperatur, og bland forsigtigt.
6. Centrifuger blandingen ved 300 x g i 3 minutter for at adskille cellerne, og kassér omhyggeligt supernatanten, der indeholder resterende frysemedium.
7. Resuspender forsigtigt cellepelleten i 10 ml frisk dyrkningsmedium. For klæbende celler deles suspensionen mellem to T25-kulturkolber; for suspensionskulturer overføres alt mediet til en T25-kolbe for at fremme effektiv celleinteraktion og -vækst.
8. Overhold etablerede subkulturprotokoller for fortsat vækst og vedligeholdelse af cellelinjen, hvilket sikrer pålidelige eksperimentelle resultater.

## PK-15-celler | 607426

**Incubation Atmosphere** 37°C, 5%  $\text{CO}_2$ , befugtet atmosfære.

**Flask Coating** For at opnå optimal vedhæftning og levedygtighed efter optøning anbefaler vi at bruge **kollagenbelagte kolber eller plader**.

**Freezing Procedure** Kryopræservede cellelinjer sendes på tøris i valideret, isoleret emballage med tilstrækkeligt kølemiddel til at opretholde ca. -78 °C under hele transporten. Ved modtagelse skal beholderen straks inspiceres, og hætteglassene skal straks overføres til passende opbevaring.

**Shipping Conditions** Kryopræservede cellelinjer sendes på tøris i valideret, isoleret emballage med tilstrækkeligt kølemiddel til at opretholde ca. -78 °C under hele transporten. Ved modtagelse skal beholderen straks inspiceres, og hætteglassene skal straks overføres til passende opbevaring.

**Storage Conditions** For langtidsopbevaring anbringes hætteglas i flydende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Opbevaring ved -80 °C er kun acceptabelt som et kort mellemtrin før overførsel til flydende nitrogen.

## Kvalitetskontrol / Genetisk profil / HLA

**Sterility** Mycoplasma-kontaminering udelukkes ved hjælp af både PCR-baserede assays og luminescensbaserede mycoplasma-detektionsmetoder.

For at sikre, at der ikke er nogen bakterie-, svampe- eller gærforurening, underkastes cellekulturerne daglige visuelle inspektioner.

**STR-profil** Amelogenin: x,x