

PK-15 rakud | 607426

Üldine teave

Description

PK(15) rakuliin, mis on saadud PK-2A rakuliinist, mis loodi 1955. aastal täiskasvanud sea neerudest, on nakatunud sigade C-tüüpi onkoviirusega (varem tuntud kui sigade endogeenne retroviirus, PERV), mis on klassifitseeritud 2. riskirühma haigustekitajaks. Peremeesraku genoom sisaldab 62 koopiat *pol*-geeni, mis kodeerib pöördtranskriptaasi ja teisi valke.

Esialgul kirjeldati PK(15) rakuliini toodetud viiruse osakesi kui defektseid ja mitmete imetajate rakuliinide, sealhulgas inimese rakuliini jaoks mitteinfektsioone tekitavaid, mis viis selle liigitamiseni 1. riskirühma rakuliiniks. Hilisemad uuringud näitasid siiski, et inimese 293 rakke saab produktiivselt nakatada PK(15) rakkude rakuvaba supernatandiga. Selle tulemusel klassifitseeris Saksamaa bioloogilise ohutuse keskkomisjon (ZKBS) rakuliini PK(15) 2018. aasta novembris ümber.

PCR-analüüsid näitasid, et ülekantud viirused kuulusid polütroopsetesse alatüüpidesse PERV-A ja PERV-B. Lisaks täheldati, et 293 rakkude toodetud viiruseosakesed olid resistentsed inaktiveerimisele inimese komplemendisüsteemi poolt.

Lisaks virooloogilisele tähtsusele on PK(15) rakuliin ka sobiv peremees transfektsioonirakenduste jaoks. Tänu oma adherentse kasvuomadustele on see väga väärtuslik erinevates uurimis- ja katsealastes tingimustes.

Organism Siga

Tissue Neerud

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

Omadused

Breed/Subspecies Hampshire

Age Täiskasvanud

Gender Mees

Morphology Epiteelilaadsed

Growth properties Monokihiline, kleepuv

Regulatiivsed andmed

Citation PK-15 (Cytioni katalooginumber 607426)

PK-15 rakud | 607426

| | |
|-----------------------------|-----------|
| Biosafety level | 1 |
| NCBI_TaxID | 9823 |
| CellosaurusAccession | CVCL_2160 |

Biomolekulaarsed andmed

| | |
|------------------------------|---|
| Viruses | PCV1 (sigade tsirkoviirus 1) positiivne, PCV2 negatiivne, PCV3 negatiivne |
| Virus susceptibility | Sigade koolera, sigade Aafrika katk, sigade vesikulaarne eksanteem, suu- ja sõrataud (FMDV), vesikulaarne stomatiit (Indiana), vaktsiin, reoviirus 2, 3, adenoviirus 4, 5, koksackieviirus B2, B3, B4, B5, B6 |
| Virus resistance | Polioviirus 2 |
| Reverse transcriptase | Positiivne |

Töötlemine

| | |
|-----------------------------|---|
| Culture Medium | EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamiin, w: 2,2 g/L NaHCO ₃ , w: EBSS (Cytioni artikli number 820100a) |
| Supplements | Täiendada söötme 10% FBS ja 1% NEAAga |
| Dissociation Reagent | Accutase |

Subculturing Eemaldage kleepunud rakkudel vana söötme ja peske neid PBS-ga, milles puudub kaltsium ja magneesium. T25 kolbide puhul kasutage 3-5 ml PBS-i ja T75 kolbide puhul 5-10 ml. Seejärel katke rakud täielikult Accutase'iga, kasutades 1-2 ml T25 kolbide puhul ja 2,5 ml T75 kolbide puhul. Laske rakkudel inkubeerida 8-10 minutit toatemperatuuril, et need eralduksid. Pärast inkubeerimist segage rakud ettevaatlikult 10 ml söötmega, et neid resuspenseerida, seejärel tsentrifuugige 3 minutit 300xg juures. Visake supernatant ära, suspenseerige rakud uuesti värskes keskkonnas ja viige need uutesse kolvidesse, mis sisaldavad juba värsket keskkonda.

Split ratio Soovitav on suhe 1:2 kuni 1:4

Seeding density 2×10^4 rakku/cm²

Fluid renewal 2 kuni 3 korda nädalas

PK-15 rakud | 607426

Post-Thaw Recovery

Laske rakkudel külmutusprotsessist taastuda vähemalt 24-48 tundi.

Freeze medium

Krüosäilitusvedelikusena kasutame täielikku kasvukeskkonda (sh FBS) + 10% DMSO, et tagada piisav elujõulisus pärast sulatamist, või CM-1 (Cytioni katalooginumber 800100), mis sisaldab optimeeritud osmoprotektante ja metaboolseid stabilisaatoreid, et parandada taastumist ja vähendada krüostressi.

Thawing and Culturing Cells

1. Veenduge, et vialal jääb tarnimisel sügavkülmutatud, sest rakud transporditakse kuiva jääga, et säilitada optimaalne temperatuur transpordi ajal.
2. Pärast kättesaamist säilitage krüoviaal kas kohe temperatuuril alla $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, et tagada rakkude terviklikkuse säilimine, või jätkake sammuga 3, kui on vaja koheselt kultiveerida.
3. Kohese kultiveerimise korral sulatage vialali kiiresti, kastes selle $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ veevanni puhta vee ja antimikroobse ainega, segades seda õrnalt 40-60 sekundit, kuni alles jääb väike jääklomp.
4. Tehke kõik järgmised toimingud steriilsetes tingimustes vooluhoodis, desinfitseerides krüoviaal enne avamist 70% etanooliga.
5. Avage desinfitseeritud vialali ettevaatlikult ja viige rakususpensioon ettevaatlikult segades 15 ml tsentrifuugitorusse, mis sisaldab 8 ml toatemperatuuril olevat kasvukeskkonda.
6. Rakkude eraldamiseks tsentrifuugige segu $300 \times g$ juures 3 minutit ja visake ülejäänud külmutusvedelikku sisaldav supernatant ettevaatlikult ära.
7. Resuspendeerige rakupellet ettevaatlikult 10 ml värskes kasvukeskkonnas. Adhereerivate rakkude puhul jagage suspensioon kahe T25 kultuurkolvi vahel; suspensioonikultuuride puhul kandke kogu söötme keskkond ühte T25 kolbi, et soodustada rakkude tõhusat koostoimet ja kasvu.
8. Järgige kehtestatud subkultuuriprotokolle rakuliini jätkuvaks kasvuks ja säilitamiseks, tagades usaldusväärsed katsetulemused.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , niisutatud atmosfäär.

Flask Coating

Puudub

Freezing Procedure

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

PK-15 rakud | 607426

**Shipping
Conditions**

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu -78 °C. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige viaalid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

**Storage
Conditions**

Pikaajaliseks säilitamiseks asetage viaalid aurufaasis vedela lämmastikuga umbes -150 kuni -196 °C juures. Säilitamine temperatuuril -80 °C on vastuvõetav ainult lühikese vaheetapina enne vedela lämmastikuga üleviimist.

Kvaliteedikontroll / Geneetiline profiil / HLA

Sterility

Mükoplasmakontaminatsioon on välistatud nii PCR-põhiste analüüside kui ka luminescentsil põhinevate mükoplasma tuvastamise meetodite abil.

Bakteriaalse, seene- või pärmsaaste puudumise tagamiseks kontrollitakse rakukultuure iga päev visuaalselt.

STR-profiil

Amelogenin: x,x