

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.

Esiialgu 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

Bioturvalisuse tase 1.

Rakuliinis leidub sigade C-tüüpi onkoviiruse (PCOV) järjestusi ja nende transkripte ning viiruse sekretsiooni võimalust ei saa välistada. Saksamaal liigitatakse need viirused inimeste puhul BSL 1 ja loomade puhul BSL 2 kategooriasse (TRBA 462). Saksamaa bioloogilise ohutuse keskkomitee (ZKBS) määrab neile viirustele ja nakatunud rakuliinidele siiski BSL 2 klassifikatsiooni, kui neid kasutatakse geneetilise muundamise eesmärgil.

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, koksackievirus 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 NaHCO₃, w: EBSS (Cytioni artikli number 820100a)**Supplements**

Täiendada söötme 10% FBS ja 1% NEAAga

Dissociation Reagent

Accutase

Subculturing

Eemaldage kleepunud rakkudelt 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 söötme, 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.

PK-15 rakud | 607426

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

Seeding density 2×10^4 rakku/cm²

Fluid renewal 2 kuni 3 korda nädalas

Post-Thaw Recovery Laske rakkudel külmutusprotsessist taastuda vähemalt 24-48 tundi.

Freeze medium Krüosäilitusvedelikuna kasutage 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 vial jääb tarnimisel sügavkülmutatud, sest rakud transporditakse kuiva jääga, et säilitada optimaalne temperatuur transpordi ajal.
2. Pärast kättesaamist säilitage krüoviaal kas kohe temperatuuril alla -150 °C, et tagada rakkude tervikluse säilimine, või jätkake sammuga 3, kui on vaja koheselt kultiveerida.
3. Kohese kultiveerimise korral sulatage viali kiiresti, kastes selle 37 °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 viali ettevaatlikult ja viige rakususpensioon ettevaatlikult segades 15 ml tsentrifuugitorusse, mis sisaldab 8 ml toatemperatuuril olevat kasvukeskkonda.
6. Rakkude eraldamiseks tsentrifuugige segu 300 x 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°C, 5% CO₂, niisutatud atmosfäär.

PK-15 rakud | 607426

Flask Coating

Optimaalse kinnitumise ja elujõulisuse tagamiseks pärast sulatamist soovitame kasutada **kollageeniga kaetud koldeid või plaate**.

Freezing Procedure

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.

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