

PK-15-solut | 607426

Yleisiä tietoja

Description

PK(15)-solulinja, joka on johdettu PK-2A-solulinjasta, joka on vuonna 1955 aikuisen sian munuaisesta luotu solulinja, on saanut tartunnan sikojen C-tyypin onkoviruksesta (joka tunnettiin aiemmin nimellä sikojen endogeeninen retrovirus, PERV), joka on luokiteltu riskiryhmän 2 taudinaiheuttajaksi. Isäntäsolun genomissa on 62 kopiota *pol*-geenistä, joka koodaa käänteistranskriptaasia ja muita proteiineja.

Alun perin PK(15)-solulinjan tuottamat viruspartikkelit kuvattiin viallisiksi ja ei-infektiivisiksi useille nisäkässolulinjoille, mukaan lukien ihmisen solulinja, minkä vuoksi se luokiteltiin riskiryhmän 1 solulinjaksi. Myöhemmät tutkimukset kuitenkin osoittivat, että ihmisen 293-solut voidaan infektoida tuottavasti PK(15)-solujen soluvapaalla supernatantilla. Tämä havainto johti siihen, että Saksan biologisen turvallisuuden keskuskomissio (ZKBS) luokitteli PK(15)-solulinjan uudelleen marraskuussa 2018.

PCR-analyysit osoittivat, että lähetetyt virukset kuuluivat polytrooppisiin alatyyppeihin PERV-A ja PERV-B. Lisäksi havaittiin, että 293-solujen tuottamat viruspartikkelit olivat resistenttejä inaktivoitumaan ihmisen komplementtijärjestelmällä.

Virologisen merkityksensä lisäksi PK(15)-solulinja toimii myös sopivana isäntänä transfektiosovelluksiin. Tarttuvien kasvuominaisuuksiensa ansiosta se on erittäin arvokas erilaisissa tutkimus- ja koeasetelmissa.

Organism Sika

Tissue Munuaiset

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

Ominaisuudet

Breed/Subspecies Hampshire

Age Aikuiset

Gender Mies

Morphology Epiteelin kaltainen

Growth properties Yksikerroksinen, tarttuva

Säätelytiedot

Citation PK-15 (Cytionin luettelonumero 607426)

PK-15-solut | 607426

Biosafety level

Bioturvallisuustaso 1.

Solulinjassa on sikojen C-tyyppin onkoviruksen (PCOV) sekvenssejä ja niiden transkripttejä, eikä viruksen erittymisen mahdollisuutta voida sulkea pois. Saksassa nämä virukset luokitellaan BSL 1 -luokkaan ihmisille ja BSL 2 -luokkaan eläimille (TRBA 462). Saksan biologisen turvallisuuden keskuskomitea (ZKBS) antaa kuitenkin näille viruksille ja tartunnan saaneille solulinjoille BSL 2 -luokituksen, kun niitä käytetään geneettiseen muuntamiseen.

NCBI_TaxID

9823

CellosaurusAccession

CVCL_2160

Biomolekyylitiedot**Viruses**

PCV1 (Porcine circovirus 1) positiivinen, PCV2 negatiivinen, PCV3 negatiivinen

Virus susceptibility

Sikojen kolera, afrikkalainen sikarutto, sian vesikulaarinen eksanteema, suu- ja sorkkatauti (FMDV), vesicular stomatitis (Indiana), rokotus, reovirus 2, 3, adenovirus 4, 5, coxsackievirus B2, B3, B4, B5, B6

Virus resistance

Poliovirus 2

Reverse transcriptase

Positiivinen

Käsittely**Culture Medium**EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamiini, w: 2,2 g/L NaHCO₃, w: EBSS (Cytionin artikkelinumero 820100a)**Supplements**

Täydennetään elatusainetta 10 % FBS:llä ja 1 % NEAA:lla

Dissociation Reagent

Accutase

Subculturing

Poista vanha väliaine tarttuneista soluista ja pese ne PBS:llä, josta puuttuu kalsiumia ja magnesiumia. Käytä T25-pulloissa 3-5 ml PBS:ää ja T75-pulloissa 5-10 ml. Peitä sitten solut kokonaan Accutase-valmisteella, käyttäen 1-2 ml T25-pulloissa ja 2,5 ml T75-pulloissa. Anna solujen inkuboitua huoneenlämmössä 8-10 minuuttia solujen irtoamiseksi. Inkuboinnin jälkeen solut sekoitetaan varovasti 10 ml:n väliaineella niiden resuspendoimiseksi ja sentrifugoidaan sitten 300xg:n nopeudella 3 minuutin ajan. Hävitä supernatantti, suspendoi solut uudelleen tuoreessa väliaineessa ja siirrä ne uusiin pulloihin, jotka sisältävät jo tuoretta väliaineita.

PK-15-solut | 607426

Split ratio Suositeltava suhde on 1:2–1:4

Seeding density 2×10^4 solua/cm²

Fluid renewal 2-3 kertaa viikossa

Post-Thaw Recovery Anna solujen toipua pakastuksesta vähintään 24-48 tuntia.

Freeze medium Käytä kryosäilytysmediana täydellistä kasvualustaa (mukaan lukien FBS) + 10 % DMSO:ta riittävän sulatuksen jälkeisen elinkelpoisuuden saavuttamiseksi tai CM-1:tä (Cytionin luettelonumero 800100), joka sisältää optimoituja osmoprotektantteja ja metabolisia stabilisaattoreita, jotka parantavat elpymistä ja vähentävät kryon aiheuttamaa stressiä.

Thawing and Culturing Cells

1. Varmista, että injektiopullo pysyy syväjäädetyttynä toimitettaessa, sillä solut kuljetetaan kuivajäädessä, jotta optimaalinen lämpötila säilyy kuljetuksen aikana.
2. Vastaanotettaessa kryopullo joko säilytetään välittömästi alle -150 °C:n lämpötilassa solujen eheyden säilyttämiseksi tai edetään vaiheeseen 3, jos tarvitaan välitöntä viljelyä.
3. Välitöntä viljelyä varten sulata injektiopullo nopeasti upottamalla se 37 °C:n vesihauteeseen, jossa on puhdasta vettä ja antimikrobista ainetta, ja sekoittamalla sitä varovasti 40-60 sekunnin ajan, kunnes jäädästä on jäljellä pieni jäämöhkäle.
4. Suorita kaikki seuraavat vaiheet steriileissä olosuhteissa virtaushupussa ja desinfioi kryopullo 70-prosenttisellä etanolilla ennen avaamista.
5. Avaa desinfioitu injektiopullo varovasti ja siirrä solususpensio 15 ml:n sentrifugiputkeen, joka sisältää 8 ml huoneenlämpöistä elatusainetta, varovasti sekoittaen.
6. Sentrifugoi seosta 300 x g:n voimakkuudella 3 minuutin ajan solujen erottamiseksi ja hävitä varovasti supernatantti, joka sisältää jäännöspakastusmediumia.
7. Suspendoidaan solupelletti varovasti uudelleen 10 ml:aan tuoretta elatusainetta. Jos solut ovat tarttuvaa, jaa suspensio kahden T25-kolvin kesken; jos kyseessä ovat suspensioviljelmät, siirrä kaikki väliaine yhteen T25-kolviin solujen tehokkaan vuorovaikutuksen ja kasvun edistämiseksi.
8. Noudata vakiintuneita aliviljelyprotokollia solulinjan jatkuvan kasvun ja ylläpidon varmistamiseksi ja luotettavien kokeellisten tulosten varmistamiseksi.

PK-15-solut | 607426

Incubation Atmosphere 37 °C, 5 %_{CO2}, kostutettu ilmakehä.

Flask Coating Optimaalisen kiinnittymisen ja elinkelpoisuuden saavuttamiseksi sulatuksen jälkeen suosittelemme **kollageenipinnoitettujen pullojen tai levyjen** käyttöä.

Freezing Procedure Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäässä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

Shipping Conditions Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäässä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

Storage Conditions Pitkäaikaissäilytystä varten injektiopullot asetetaan höryfaasissa olevaan nestemäiseen tyypeen noin -150 - -196 °C:een. Säilytys -80 °C:ssa on hyväksyttävää vain lyhyenä välivaiheena ennen siirtoa nestemäiseen tyypeen.

Laadunvalvonta / Geneettinen profiili / HLA

Sterility Mykoplasmaakontaminaatio suljetaan pois sekä PCR-pohjaisilla määrittelyillä että luminesenssiin perustuvilla mykoplasman osoitusmenetelmillä.

Bakteeri-, sieni- tai hiivakontaminaation välttämiseksi soluviljelmät tarkastetaan päivittäin silmämääräisesti.

STR-profiili **Amelogenin:** x,x