

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 nisäkäsolulinjoille, 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 1**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.**Split ratio** Suositeltava suhde on 1:2-1:4**Seeding density** 2×10^4 solua/cm²**Fluid renewal** 2-3 kertaa viikossa

PK-15-solut | 607426

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

Freeze medium Kryosäilytysmediana käytämme täydellistä kasvualustaa (mukaan lukien FBS) + 10 % DMSO:ta riittävän sulatuksen jälkeisen elinkelpoisuuden varmistamiseksi tai CM-1:tä (Cytionin luettelonumero 800100), joka sisältää optimoituja osmoprotectantteja ja metabolisia stabilisaattoreita, jotka parantavat elpymistä ja vähentävät kryosäilytyksen 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-prosenttisella 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 tarttuvia, 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.

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

Flask Coating Ei mitään

PK-15-solut | 607426

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

Pitkäaikaisäilytystä varten injektiopullot asetetaan höyryfaasissa 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