

## PK-15 sejtek | 607426

## Általános információk

## Description

A PK(15) sejtvonal, amely az 1955-ben felnőtt sertés veséjéből létrehozott PK-2A sejtvonalból származik, a sertés C típusú onkovírussal (korábbi nevén sertés endogén retrovírus, PERV) fertőzött, amely a 2. kockázati csoportba tartozó kórokozó. A gazdasejt genomja a \*pol\* gén 62 példányát tartalmazza, amely a reverz transzkriptázt és más fehérjéket kódol.

Kezdetben a PK(15) sejtvonal által termelt vírusrészecskéket számos emlőssejtvonalra, köztük egy emberi sejtvonalra nézve hibásnak és nem fertőzőnek írták le, ami az 1. kockázati csoportba való besorolásához vezetett. Későbbi vizsgálatok azonban kimutatták, hogy a PK(15) sejtek sejtmertes felülűszójával humán 293 sejtek produktívan megfertőzhetők. Ez a megállapítás azt eredményezte, hogy a német Biológiai Biztonság Központi Bizottsága (ZKBS) 2018 novemberében átminősítette a PK(15) sejtvonalat.

A PCR-elemzések kimutatták, hogy az átvitt vírusok a PERV-A és PERV-B polytróp altípusokhoz tartoztak. Emellett megfigyelték, hogy a 293-as sejtek által termelt vírusrészecskék ellenálltak a humán komplementrendszer általi inaktiválásnak.

A PK(15) sejtvonal virológiai jelentőségén túlmenően alkalmas gazdatestként is szolgál a transzfekeiós alkalmazásokhoz. Adherens növekedési tulajdonságai miatt rendkívül értékes a különböző kutatási és kísérleti környezetben.

**Organism** Disznó

**Tissue** Vese

**Synonyms** PK(15), PK (15), PK 15, PK15, PK15, sertésvese-15

## Jellemzők

**Breed/Subspecies** Hampshire

**Age** Felnőtt

**Gender** Férfi

**Morphology** Epithelszerű

**Growth properties** Monoréteg, tapadó

## Szabályozási adatok

**Citation** PK-15 (Cytion katalógusszám: 607426)

## PK-15 sejtek | 607426

Biosafety level 1

NCBI\_TaxID 9823

CellosaurusAccession CVCL\_2160

## Biomolekuláris adatok

Viruses PCV1 (sertés cirkovírus 1) pozitív, PCV2 negatív, PCV3 negatív

Virus susceptibility Sertés kolera, afrikai sertéspestis, sertés hólyagos exantémája, száj- és körömfájás (FMDV), hólyagos szájgyulladás (Indiana), vakcina, reovírus 2, 3, adenovírus 4, 5, coxsackievirus B2, B3, B4, B5, B6

Virus resistance Poliovírus 2

Reverse transcriptase Pozitív

## A kezelése

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

Supplements A táptalajt 10% FBS-szel és 1% NEAA-val kell kiegészíteni

Dissociation Reagent Accutase

**Subculturing** Távolítsa el a régi táptalajt a megtapadt sejtekről, és mossa őket kalcium- és magnéziummentes PBS-szel. T25-ös lombikokhoz 3-5 ml PBS-t, T75-ös lombikokhoz pedig 5-10 ml-t használjunk. Ezután fedjük be a sejteket teljesen Accutase-zal, T25 lombikok esetében 1-2 ml-t, T75 lombikok esetében 2,5 ml-t használva. A sejteket 8-10 percig hagyjuk szobahőmérsékleten inkubálni, hogy leváljanak. Az inkubálás után óvatosan keverjük össze a sejteket 10 ml tápfolyadékkal, hogy reszuszpendáljuk őket, majd centrifugáljuk 300xg-nél 3 percig. Dobja el a felülúszót, szuszpendálja újra a sejteket friss tápfolyadékban, és helyezze át őket új lombikokba, amelyek már friss tápfolyadékot tartalmaznak.

Split ratio 1:2 és 1:4 közötti arányt javasolunk

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

Fluid renewal hetente 2-3 alkalommal

## PK-15 sejtek | 607426

**Post-Thaw Recovery**

Hagyja, hogy a sejtek legalább 24-48 órán át regenerálódjanak a fagyasztás után.

**Freeze medium**

Krioprezerváló táptalajként teljes növekedési táptalajt (beleértve az FBS-t) + 10% DMSO-t használunk a megfelelő kiolvasztás utáni életképesség érdekében, vagy CM-1-et (Cytion katalógusszám: 800100), amely optimalizált ozmoprotektánsokat és metabolikus stabilizátorokat tartalmaz a regenerálódás fokozása és a krio-indukált stressz csökkentése érdekében.

**Thawing and Culturing Cells**

1. Ellenőrizze, hogy az injekciós üveg a szállításkor mélyhűtött marad-e, mivel a sejteket szárazjégen szállítják, hogy a szállítás során az optimális hőmérsékletet fenntartsák.
2. Átvételt követően vagy azonnal tárolja a krioampullát  $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$  alatti hőmérsékleten a sejtek integritásának megőrzése érdekében, vagy folytassa a 3. lépéssel, ha azonnali tenyésztésre van szükség.
3. Azonnali tenyésztés esetén gyorsan fel kell olvasztani az injekciós üveget úgy, hogy tiszta vízzel és antimikrobiális szerrel ellátott  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ -os vízfürdőbe merítjük, és 40-60 másodpercig óvatosan kevergetjük, amíg egy kis jégcsomó nem marad.
4. Az összes további lépést steril körülmények között, áramlásos elszívóban végezzük el, és nyitás előtt fertőtlenítsük a krioüklét 70%-os etanollal.
5. Óvatosan nyissa fel a fertőtlenített fiolát, és a sejtszuszpenziót óvatosan összekeverve helyezze át egy 15 ml-es centrifugacsőbe, amely 8 ml szobahőmérsékletű táptalajt tartalmaz.
6. Centrifugáljuk az elegyet  $300 \times g$ -n 3 percig a sejtek szétválasztásához, és óvatosan dobjuk el a maradék fagyasztóközeget tartalmazó felülúszót.
7. Óvatosan szuszpendáljuk újra a sejt pelletet 10 ml friss táptalajban. Adhezív sejtek esetében ossza a szuszpenziót két T25-ös tenyésztőlombik között; szuszpenziós kultúrák esetében az összes tápfolyadékot tegye át egy T25-ös lombikba a hatékony sejt kölcsönhatás és növekedés elősegítése érdekében.
8. A sejtvonal folyamatos növekedése és fenntartása érdekében tartsa be a megállapított szubkultúra protokollokat, biztosítva a megbízható kísérleti eredményeket.

**Incubation Atmosphere**

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , párasított légkör.

**Flask Coating**

Nincs

## PK-15 sejtek | 607426

### Freezing Procedure

A kriokonzervált sejtvonalatokat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül  $-78\text{ °C}$ -on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

### Shipping Conditions

A kriokonzervált sejtvonalatokat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül  $-78\text{ °C}$ -on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

### Storage Conditions

Hosszú távú tartósítás céljából helyezze az üvegeket gőzfázisú folyékony nitrogénbe, körülbelül  $-150$  és  $-196\text{ °C}$  közötti hőmérsékleten. A  $-80\text{ °C}$ -on történő tárolás csak rövid átmeneti lépésként fogadható el a folyékony nitrogénbe való átvitel előtt.

## Minőségellenőrzés / Genetikai profil / HLA

### Sterility

A mikoplazma-szennyeződést mind a PCR-alapú vizsgálatokkal, mind a lumineszcencia-alapú mikoplazma-kimutatási módszerekkel kizárják.

A bakteriális, gombás vagy élesztőgombás szennyeződés elkerülése érdekében a sejt kultúrákat napi vizuális ellenőrzésnek vetik alá.

### STR profil

Amelogenin: x,x