

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 transzfecció 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. biológiai biztonsági szint.

A sejtvonal C típusú sertés onkovírus (PCOV) szekvenciákat és azok transzkriptumait tartalmazza, és a vírusszektáció lehetősége nem zárható ki. Németországban ezeket a vírusokat az emberek esetében BSL 1, állatok esetében BSL 2 kategóriába sorolják (TRBA 462). A német Biológiai Biztonság Központi Bizottsága (ZKBS) azonban BSL 2 besorolást ad ezeknek a vírusoknak és a fertőzött sejtvonalaknak, ha azokat genetikai módosítás céljából használják.

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, coxsackievírus 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 NaHCO₃, 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.

PK-15 sejtek | 607426

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

Seeding density 2×10^4 sejt/cm²

Fluid renewal hetente 2-3 alkalommal

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

Freeze medium Krioprezerváló táptalajként használjon teljes növekedési táptalajt (beleértve az FBS-t) + 10% DMSO-t 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 °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 °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 sejtuszpenziót 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 sejt vonal folyamatos növekedése és fenntartása érdekében tartsa be a megállapított szubkultúra protokollokat, biztosítva a megbízható kísérleti eredményeket.

PK-15 sejtek | 607426

Incubation Atmosphere 37°C, 5%_{CO2}, párasított légkör.

Flask Coating A felolvasztás utáni optimális kötődés és életképesség érdekében **kollagénnel bevont lombikok vagy lemezek** használatát javasoljuk.

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

Shipping Conditions A kriokonzervált sejtvonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül -78 °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 °C közötti hőmérsékleten. A -80 °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 sejtkultúrákat napi vizuális ellenőrzésnek vetik alá.

STR profil Amelogenin: x,x