

Sel PK-15 | 607426

Informasi umum

Description

Garis sel PK (15), yang berasal dari PK-2A, garis sel yang dibuat pada tahun 1955 dari ginjal babi dewasa, terinfeksi onkovirus tipe-C babi (sebelumnya dikenal sebagai retrovirus endogen babi, PERV), yang diklasifikasikan sebagai agen kelompok risiko 2. Genom sel inang mengandung 62 salinan gen *pol*, yang mengkode reverse transcriptase dan protein lainnya.

Awalnya, partikel virus yang diproduksi oleh garis sel PK (15) digambarkan sebagai cacat dan tidak menular untuk berbagai garis sel mamalia, termasuk garis sel manusia, yang mengarah pada klasifikasinya sebagai garis sel kelompok risiko 1. Namun, penelitian selanjutnya menunjukkan bahwa sel 293 manusia dapat terinfeksi secara produktif oleh supernatan bebas sel dari sel PK (15). Temuan ini menghasilkan klasifikasi ulang garis sel PK (15) oleh Komisi Pusat Keamanan Biologi Jerman (ZKBS) pada November 2018.

Analisis PCR mengungkapkan bahwa virus yang ditularkan termasuk dalam subtipe polytropik PERV-A dan PERV-B. Selain itu, diamati bahwa partikel virus yang diproduksi oleh 293 sel resisten terhadap inaktivasi oleh sistem komplemen manusia.

Selain signifikansi virologisnya, garis sel PK (15) juga berfungsi sebagai inang yang cocok untuk aplikasi transfeksi. Karena sifat pertumbuhannya yang patuh, ini sangat berharga dalam berbagai penelitian dan pengaturan eksperimental.

Organism Babi

Tissue Ginjal

Synonyms PK (15), PK (15), PK 15, PK15, Ginjal Babi-15

Karakteristik

Breed/Subspecies Hampshire

Age Dewasa

Gender Laki-laki

Morphology Seperti epitel

Growth properties Monolayer, patuh

Data Peraturan

Citation PK-15 (Nomor katalog Cytion 607426)

Sel PK-15 | 607426

Biosafety level

Tingkat keamanan hayati 1.

Garis sel mengandung sekuens Porcine type-C oncovirus (PCOV) dan transkripnya, dan kemungkinan sekresi virus tidak dapat dikesampingkan. Di Jerman, virus-virus ini dikategorikan sebagai BSL 1 untuk manusia dan BSL 2 untuk hewan (TRBA 462). Namun, Komite Pusat Keamanan Biologi Jerman (ZKBS) menetapkan klasifikasi BSL 2 untuk virus-virus ini dan garis sel yang terinfeksi ketika digunakan untuk tujuan modifikasi genetik.

NCBI_TaxID

9823

CellosaurusAccession

CVCL_2160

Data Biomolekuler**Viruses**

PCV1 (Porcine circovirus 1) positif, PCV2 negatif, PCV3 negatif

Virus susceptibility

Kolera babi, demam babi Afrika, eksantema vesikuler babi, penyakit mulut dan kuku (FMDV), stomatitis vesikuler (Indiana), vaccinia, reovirus 2, 3, adenovirus 4, 5, coxsackievirus B2, B3, B4, B5, B6

Virus resistance

Poliovirus 2

Reverse transcriptase

Positif

Penanganan**Culture Medium**

EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamine, w: 2,2 g/L NaHCO₃, w: EBSS (nomor artikel Cytion 820100a)

Supplements

Lengkapi media dengan 10% FBS dan 1% NEAA

Dissociation Reagent

Accutase

Subculturing

Buang media lama dari sel yang melekat dan cuci dengan PBS yang tidak mengandung kalsium dan magnesium. Untuk labu T25, gunakan 3-5 ml PBS, dan untuk labu T75, gunakan 5-10 ml. Kemudian, tutupi sel sepenuhnya dengan Accutase, menggunakan 1-2 ml untuk labu T25 dan 2,5 ml untuk labu T75. Biarkan sel diinkubasi pada suhu kamar selama 8-10 menit untuk melepaskannya. Setelah inkubasi, campurkan sel secara perlahan dengan 10 ml medium untuk meresuspensi sel, kemudian sentrifugasi pada 300xg selama 3 menit. Buang supernatan, resuspensi sel dalam medium segar, dan pindahkan ke dalam labu baru yang sudah berisi medium segar.

Sel PK-15 | 607426

Split ratio	Disarankan untuk menggunakan perbandingan 1:2 hingga 1:4
Seeding density	$2 \times 10.000 \text{ sel/cm}^2$
Fluid renewal	2 hingga 3 kali per minggu
Post-Thaw Recovery	Biarkan sel pulih dari proses pembekuan setidaknya selama 24 hingga 48 jam.
Freeze medium	Sebagai media kriopreservasi, gunakan media pertumbuhan lengkap (termasuk FBS) + 10% DMSO untuk viabilitas pasca-pencairan yang memadai, atau CM-1 (nomor katalog Cytion 800100), yang mencakup osmoprotektan yang dioptimalkan dan penstabil metabolisme untuk meningkatkan pemulihan dan mengurangi stres yang diinduksi kriopreservasi.

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Pastikan botol tetap dalam keadaan beku pada saat pengiriman, karena sel dikirim dengan es kering untuk mempertahankan suhu optimal selama perjalanan.
2. Setelah diterima, segera simpan cryovial pada suhu di bawah -150°C untuk memastikan pelestarian integritas sel, atau lanjutkan ke langkah 3 jika kultur segera diperlukan.
3. Untuk kultur segera, segera cairkan botol dengan merendamnya dalam penangas air bersuhu 37°C dengan air bersih dan agen antimikroba, aduk perlahan selama 40-60 detik hingga gumpalan es kecil tetap ada.
4. Lakukan semua langkah selanjutnya dalam kondisi steril di dalam tudung alir, desinfektan kriovial dengan etanol 70% sebelum dibuka.
5. Buka botol yang telah didesinfeksi dengan hati-hati dan pindahkan suspensi sel ke dalam tabung sentrifugasi 15 ml yang berisi 8 ml media kultur suhu kamar, aduk perlahan.
6. Sentrifus campuran pada $300 \times g$ selama 3 menit untuk memisahkan sel dan dengan hati-hati membuang supernatan yang mengandung sisa media pembekuan.
7. Resuspensi pelet sel dengan hati-hati dalam 10 ml medium kultur segar. Untuk sel yang melekat, bagi suspensi di antara dua labu kultur T25; untuk kultur suspensi, pindahkan semua media ke dalam satu labu T25 untuk mendorong interaksi dan pertumbuhan sel yang efektif.
8. Patuhi protokol subkultur yang telah ditetapkan untuk pertumbuhan dan pemeliharaan garis sel yang berkelanjutan, memastikan hasil eksperimental yang andal.

Sel PK-15 | 607426

Incubation Atmosphere 37°C, 5% CO_2 , atmosfer yang dilembabkan.

Flask Coating Untuk perlekatan dan kelangsungan hidup yang optimal setelah pencairan, kami sarankan untuk menggunakan **labu atau pelat berlapis kolagen**.

Freezing Procedure Lini sel kriopreservasi dikirim di atas es kering dalam kemasan terisolasi yang divalidasi dengan refrigeran yang cukup untuk mempertahankan suhu sekitar -78 ° C selama perjalanan. Setelah diterima, segera periksa wadah dan pindahkan botol tanpa penundaan ke tempat penyimpanan yang sesuai.

Shipping Conditions Lini sel kriopreservasi dikirim di atas es kering dalam kemasan terisolasi yang divalidasi dengan refrigeran yang cukup untuk mempertahankan suhu sekitar -78 ° C selama perjalanan. Setelah diterima, segera periksa wadah dan pindahkan botol tanpa penundaan ke tempat penyimpanan yang sesuai.

Storage Conditions Untuk pengawetan jangka panjang, tempatkan botol dalam nitrogen cair fase uap pada suhu sekitar -150 hingga -196 °C. Penyimpanan pada suhu -80 °C hanya dapat diterima sebagai langkah sementara sebelum dipindahkan ke nitrogen cair.

Kontrol kualitas / Profil genetik / HLA

Sterility Kontaminasi mikoplasma disingkirkan dengan menggunakan tes berbasis PCR dan metode deteksi mikoplasma berbasis pendaran.
Untuk memastikan tidak ada kontaminasi bakteri, jamur, atau ragi, kultur sel menjalani inspeksi visual setiap hari.

Profil STR **Amelogenin:** x,x