

PK-15 ląstelės | 607426

Bendra informacija

Description

Ląstelių linija PK(15), gauta iš 1955 m. iš suaugusios kiaulės inkstų sukurtos ląstelių linijos PK-2A, yra užkrėsta kiaulių C tipo onkovirusu (anksčiau vadintu kiaulių endogeniniu retrovirusu, PERV), kuris priskiriamas 2 rizikos grupei. Ląstelės šeimininkės genome yra 62 kopijos *pol* geno, kuris koduoja atvirkštinę transkriptazę ir kitus baltymus.

Iš pradžių buvo aprašyta, kad PK(15) ląstelių linijos sukurtos viruso dalelės yra defektinės ir neužkrečiamos įvairioms žinduolių ląstelių linijoms, įskaitant žmogaus ląstelių liniją, todėl ji buvo priskirta 1 rizikos grupės ląstelių linijai. Tačiau vėlesni tyrimai parodė, kad žmogaus 293 ląsteles galima produktyviai užkrėsti PK(15) ląstelių supernatantu be ląstelių. Dėl šios išvados Vokietijos centrinė biologinės saugos komisija (ZKBS) 2018 m. lapkričio mėn. perklasifikavo PK(15) ląstelių liniją.

Atlikus PGR analizę paaiškėjo, kad perduoti virusai priklausė politropiniams PERV-A ir PERV-B potipiems. Be to, pastebėta, kad 293 ląstelių pagamintos viruso dalelės buvo atsparios žmogaus komplemento sistemos inaktyvacijai.

PK(15) ląstelių linija turi ne tik virusologinę reikšmę, bet ir yra tinkamas šeimininkas transfekcijai atlikti. Dėl savo adherentinio augimo savybių ji yra labai vertinga įvairiose mokslinių tyrimų ir eksperimentinėse aplinkose.

Organism Kiaulė

Tissue Inkstai

Synonyms PK(15), PK (15), PK 15, PK15, PK15, Kiaulių inkstai-15

Charakteristikos

Breed/Subspecies Hampšyras

Age Suaugusiųjų

Gender Vyras

Morphology | epitelį panašus

Growth properties Viensluoksnis, priglundęs

Reguliavimo duomenys

Citation PK-15 (Cytion katalogo numeris 607426)

PK-15 ląstelės | 607426

Biosafety level

1 biologinės saugos lygis.

Ląstelių linija turi kiaulių C tipo onkoviruso (PCOV) sekų ir jų transkriptų, todėl negalima atmesti viruso išskyrimo galimybės. Vokietijoje šie virusai priskiriami 1 BSL žmonėms ir 2 BSL gyvūnams (TRBA 462). Tačiau Vokietijos centrinis biologinės saugos komitetas (ZKBS) šiems virusams ir infekuotoms ląstelių linijoms, kai jie naudojami genetinio modifikavimo tikslais, priskiria BSL 2 klasifikaciją.

NCBI_TaxID

9823

CellosaurusAccession

CVCL_2160

Biomolekuliniai duomenys**Viruses**

PCV1 (kiaulių cirkovirusas 1) teigiamas, PCV2 neigiamas, PCV3 neigiamas

Virus susceptibility

Kiaulių cholera, afrikinis kiaulių maras, kiaulių vezikulinė egzantema, snukio ir nagų liga (FMDV), vezikulinis stomatitas (Indiana), vakcinacija, reovirusas 2, 3, adenovirusas 4, 5, koksaki virusas B2, B3, B4, B5, B6

Virus resistance

Poliovirusas 2

Reverse transcriptase

Teigiamas

Tvarkymas**Culture Medium**

EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutaminas, w: 2,2 g/L NaHCO₃, w: EBSS (Cytion gaminio numeris 820100a)

Supplements

Papildykite terpę 10 % FBS ir 1 % NEAA

Dissociation Reagent

Accutase

Subculturing

Pašalinkite seną terpę nuo prilipusių ląstelių ir nuplaukite jas PBS, kuriame nėra kalcio ir magnio. T25 kolboms naudokite 3-5 ml PBS, o T75 kolboms - 5-10 ml. Tuomet visiškai užpilkite ląsteles "Accutase", naudodami 1-2 ml T25 kolboms ir 2,5 ml T75 kolboms. Leiskite ląstelėms inkubuotis kambario temperatūroje 8-10 minučių, kad jos atsiskirtų. Po inkubacijos atsargiai sumaišykite ląsteles su 10 ml terpės, kad jos vėl suspenduotų, tada 3 minutes centrifuguokite 300xg greičiu. Išmeskite supernatantą, vėl sutirpinkite ląsteles šviežioje terpėje ir perkelkite jas į naujas kolbas, kuriose jau yra šviežia terpė.

Split ratio

Rekomenduojamas santykis nuo 1:2 iki 1:4

PK-15 ląstelės | 607426**Seeding density** 2 × 10⁴ ląstelių/cm²**Fluid renewal** 2-3 kartus per savaitę**Post-Thaw Recovery** Leiskite ląstelėms atsigauti po šaldymo proceso bent 24-48 valandas.**Freeze medium** Kaip kriokonservavimo terpę naudokite visavertę augimo terpę (įskaitant FBS) + 10 % DMSO, kad būtų užtikrintas tinkamas gyvybingumas po atšildymo, arba CM-1 (Cytion katalogo numeris 800100), kurioje yra optimizuotų osmoprotektorių ir medžiagų apykaitos stabilizatorių, kad būtų pagerintas atsigavimas ir sumažintas kriokonservavimo sukeltas stresas.**Thawing and Culturing Cells**

1. Patikrinkite, ar pristatant buteliuką jis išlieka gerai užšaldytas, nes ląstelės gabenamos ant sauso ledo, kad gabenimo metu būtų palaikoma optimali temperatūra.
2. Gavę iš karto laikykite kriovialą žemesnėje nei -150 °C temperatūroje, kad užtikrintumėte ląstelių vientisumo išsaugojimą, arba pereikite prie 3 veiksmo, jei reikia nedelsiant kultivuoti.
3. Jei norite nedelsiant pradėti kultivuoti, greitai atšildykite buteliuką panardindami jį į 37 °C temperatūros vandens vonelę su švariu vandeniu ir antimikrobine priemone, švelniai maišydami 40-60 sekundžių, kol liks nedidelis ledo gabalėlis.
4. Visus tolesnius veiksmus atlikite steriliomis sąlygomis srauto gaubte, prieš atidarydami kriovialą dezinfekuokite jį 70 % etanolium.
5. Atsargiai atidarykite dezinfekuotą buteliuką ir perpilkite ląstelių suspensiją į 15 ml centrifugos mėgintuvėlį, kuriame yra 8 ml kambario temperatūros mitybinės terpės, atsargiai išmaišykite.
6. Mišinį centrifuguokite 300 x g greičiu 3 minutes, kad atsiskirtų ląstelės, ir atsargiai išmeskite supernatantą su šaldymo terpės likučiais.
7. Švelniai resuspenduokite ląstelių granules 10 ml šviežios mitybinės terpės. Jei ląstelės yra prigludusios, suspensiją padalykite į dvi T25 kolbas; jei tai suspensinės kultūros, visą terpę perkelti į vieną T25 kolbą, kad paskatintumėte veiksmingą ląstelių sąveiką ir augimą.
8. Laikykitės nustatytų subkultūrų protokolų, kad ląstelių linija nuolat augtų ir būtų palaikoma, taip užtikrinant patikimus eksperimentų rezultatus.

Incubation Atmosphere 37 °C, 5 % CO₂, drėkintoje atmosferoje.

PK-15 ląstelės | 607426

Flask Coating

Kad po atšildymo būtų užtikrintas optimalus prisitvirtinimas ir gyvybingumas, rekomenduojame naudoti **kolagenu dengtas kolbas arba plokšteles.**

Freezing Procedure

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelkite mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

Shipping Conditions

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelkite mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

Storage Conditions

Norėdami ilgai saugoti, įdėkite buteliukus į garų fazės skystą azotą maždaug $-150\text{--}196\text{ }^{\circ}\text{C}$ temperatūroje. Laikymas $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ temperatūroje yra priimtinas tik kaip trumpas tarpinis etapas prieš perkeliant į skystąjį azotą.

Kokybės kontrolė / Genetinis profilis / HLA

Sterility

Mikoplazmos užterštumas atmetamas taikant PGR pagrįstus tyrimus ir liuminescencinius mikoplazmos aptikimo metodus.

Siekiant užtikrinti, kad nebūtų užteršimo bakterijomis, grybeliais ar mielėmis, ląstelių kultūros kasdien vizualiai tikrinamos.

STR profilis

Amelogenin: x,x