

PK-15 šūnas | 607426

Vispārīga informācija

Description

PK(15) šūnu līnija, kas iegūta no PK-2A šūnu līnijas, kura izveidota 1955. gadā no pieaugušas cūkas nierēm, ir inficēta ar cūku C tipa onkovīrusu (agrāk pazīstams kā cūku endogēnais retrovīruss, PERV), kas klasificēts kā 2. riska grupas ierosinātājs. Saimnieka šūnas genoms satur 62 kopijas *pol* gēna, kas kodē reverso transkriptāzi un citas olbaltumvielas.

Sākotnēji PK(15) šūnu līnijas radītās vīrusa daļiņas tika aprakstītas kā bojātas un neinfekciozas dažādām zīdītāju šūnu līnijām, tostarp cilvēka šūnu līnijai, kā rezultātā tā tika klasificēta kā 1. riska grupas šūnu līnija. Tomēr turpmāki pētījumi parādīja, ka cilvēka 293 šūnas var produktīvi inficēt ar PK(15) šūnu bezšūnu supernatantu. Šī atklājuma rezultātā Vācijas Centrālā bioloģiskās drošības komisija (ZKBS) 2018. gada novembrī pārklassificēja PK(15) šūnu līniju.

PKR analīzes atklāja, ka pārnestie vīrusi piederēja pie politropiskajiem PERV-A un PERV-B apakštipiem. Turklāt tika novērots, ka 293 šūnu producētās vīrusa daļiņas bija noturīgas pret inaktivāciju ar cilvēka komplementa sistēmu.

Papildus tās virusoloģiskajai nozīmei PK(15) šūnu līnija kalpo arī kā piemērots saimnieks transfekcijas lietojumiem. Pateicoties tās adherentās augšanas īpašībām, tā ir ļoti vērtīga dažādos pētījumos un eksperimentos.

Organism Cūka

Tissue Nieres

Synonyms PK(15), PK (15), PK 15, PK 15, PK15, cūku nieres-15

Raksturojums

Breed/Subspecies Hempšīra

Age Pieaugušo

Gender Vīrieši

Morphology Epitēlijveidīgs

Growth properties Vienslāņa, adhēzija

Normatīvie dati

Citation PK-15 (Cytion kataloga numurs 607426)

PK-15 šūnas | 607426

Biosafety level

1. bioloģiskās drošības līmenis.

Šūnu līnijā ir C tipa cūku onkovīrusa (PCOV) sekvences un to transkripti, un nevar izslēgt vīrusa sekrēcijas iespēju. Vācijā šie vīrusi ir klasificēti kā BSL 1 cilvēkiem un BSL 2 dzīvniekiem (TRBA 462). Tomēr Vācijas Centrālā bioloģiskās drošības komiteja (ZKBS) šiem vīrusiem un inficētajām šūnu līnijām piešķir BSL 2 klasifikāciju, ja tos izmanto ģenētiskās modifikācijas mērķiem.

NCBI_TaxID 9823

CellosaurusAccession CVCL_2160

Biomolekulārie dati

Viruses PCV1 (cūku cirkovīruss 1) pozitīvs, PCV2 negatīvs, PCV3 negatīvs

Virus susceptibility Cūku holera, Āfrikas cūku mēris, cūku vezikulārā eksantēma, mutes un nagu sērga (FMDV), vezikulārais stomatīts (Indiana), vakcīnija, reovīruss 2, 3, adenovīruss 4, 5, koksackie vīruss B2, B3, B4, B5, B6

Virus resistance Poliovīruss 2

Reverse transcriptase Pozitīvs

Darbs ar

Culture Medium EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-glutamīns, w: 2,2 g/L NaHCO₃, w: EBSS (Cytion izstrādājuma numurs 820100a)

Supplements Papildināt barotni ar 10% FBS un 1% NEAA

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Noņemt veco barotni no pielipušajām šūnām un mazgāt tās ar PBS, kurā nav kalcija un magnija. T25 kolbām izmantojiet 3-5 ml PBS, bet T75 kolbām - 5-10 ml. Pēc tam pilnībā pārklājiet šūnas ar Accutase, izmantojot 1-2 ml T25 kolbām un 2,5 ml T75 kolbām. Ļaujiet šūnām inkubēties istabas temperatūrā 8-10 minūtes, lai tās atdalītos. Pēc inkubācijas uzmanīgi samaisiet šūnas ar 10 ml barotnes, lai tās atkārtoti suspendētu, pēc tam centrifugējiet 3 minūtes ar 300xg. Izmetiet supernatantu, atkārtoti suspendējiet šūnas svaigā barotnē un pārvietojiet tās jaunās kolbās, kurās jau ir svaiga barotne.

Split ratio Ieteicams izmantot proporciju no 1:2 līdz 1:4

PK-15 šūnas | 607426

Seeding density 2 x 10⁴ šūnas/cm²

Fluid renewal 2 līdz 3 reizes nedēļā

Post-Thaw Recovery Ļaujiet šūnām atgūties pēc sasaldēšanas procesa vismaz 24-48 stundas.

Freeze medium Kā kriokonservēšanas barotni izmantojiet pilnvērtīgu augšanas barotni (ieskaitot FBS) + 10 % DMSO, lai nodrošinātu pietiekamu dzīvotspēju pēc atkausēšanas, vai CM-1 (Cytion kataloga numurs 800100), kas ietver optimizētus osmoprotektorus un metaboliskos stabilizatorus, lai uzlabotu reģenerāciju un samazinātu krioinducēto stresu.

Thawing and Culturing Cells

1. Pārliecinieties, ka pēc piegādes flakons paliek dziļi sasaldēts, jo šūnas tiek sūtītas uz sausā ledus, lai pārvadāšanas laikā saglabātu optimālu temperatūru.
2. Pēc saņemšanas vai nu nekavējoties uzglabāt kriovialu temperatūrā, kas zemāka par -150 °C, lai nodrošinātu šūnu integritātes saglabāšanu, vai arī turpināt 3. posmu, ja nepieciešama tūlītēja kultivēšana.
3. Tūlītējas kultivēšanas gadījumā ātri atkausējiet flakonu, iegremdējot to 37°C ūdens vannā ar tīru ūdeni un antibakteriālu līdzekli, viegli maisot 40-60 sekundes, līdz paliek neliels ledus gabaliņš.
4. Visas turpmākās darbības veiciet sterilos apstākļos plūsmas nosūcējā, pirms atvēršanas dezinficējot kriovialu ar 70% etanolu.
5. Uzmanīgi atveriet dezinficēto flakonu un pārnesiet šūnu suspensiju 15 ml centrifūgas mēģenē, kurā ir 8 ml istabas temperatūras barotnes, uzmanīgi samaisot.
6. Centrifugējiet maisījumu ar 300 x g 3 minūtes, lai atdalītu šūnas, un uzmanīgi izmetiet virskārtu, kas satur saldēšanas barotnes atlikumus.
7. Viegli resuspendēt šūnu granulas 10 ml svaigas barotnes. Adhēzijas šūnu gadījumā suspensiju sadalīt divās T25 kolbās; suspensijas kultūrām visu barotni pārnest vienā T25 kolbā, lai veicinātu efektīvu šūnu mijiedarbību un augšanu.
8. Ievērojiet noteiktos subkultūru protokolus, lai nodrošinātu nepārtrauktu šūnu līnijas augšanu un uzturēšanu, tādējādi nodrošinot uzticamus eksperimentu rezultātus.

Incubation Atmosphere 37°C, 5% CO₂, mitrināta atmosfēra.

PK-15 šūnas | 607426

Flask Coating

Optimālai piestiprināšanai un dzīvotspējai pēc atkausēšanas ieteicams izmantot **ar kolagēnu pārklātas kolbas vai plates**.

Freezing Procedure

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidrums daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

Shipping Conditions

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidrums daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

Storage Conditions

Ilgstošai uzglabāšanai flakonus ievietojiet šķidrā slāpekļī ar tvaika fāzi aptuveni -150 līdz -196 °C temperatūrā. Uzglabāšana -80 °C temperatūrā ir pieļaujama tikai kā īss starpposms pirms pārvietošanas uz šķidro slāpekli.

Kvalitātes kontrole / Ģenētiskais profils / HLA

Sterility

Mikoplazmas piesārņojums tiek izslēgts, izmantojot gan uz PCR balstītus testus, gan uz luminiscenci balstītas mikoplazmas noteikšanas metodes.

Lai pārlicinātos, ka nav baktēriju, sēnīšu vai rauga piesārņojuma, šūnu kultūras katru dienu vizuāli pārbauda.

STR profils

Amelogenin: x,x