

## PK-15-celler | 607426

## Generell informasjon

## Description

PK(15)-cellelinjen, som er avledet fra PK-2A, en cellelinje som ble etablert i 1955 fra nyrene til en voksen gris, er infisert med porcint onkovirus type C (tidligere kjent som porcint endogent retrovirus, PERV), som er klassifisert som et agens i risikogruppe 2. Vertscellens genom inneholder 62 kopier av \*pol\*-genet, som koder for revers transkriptase og andre proteiner.

Opprinnelig ble viruspartiklene produsert av PK(15)-cellelinjen beskrevet som defekte og ikke-infeksiøse for en rekke pattedyrcellelinjer, inkludert en human cellelinje, noe som førte til at den ble klassifisert som en risikogruppe 1-cellelinje. Senere studier viste imidlertid at humane 293-celler kunne infiseres produktivt av den cellefrie supernatanten fra PK(15)-celler. Dette funnet resulterte i at PK(15)-cellelinjen ble omklassifisert av den tyske sentralkommisjonen for biologisk sikkerhet (ZKBS) i november 2018.

PCR-analyser avslørte at de overførte virusene tilhørte de polytrope subtypene PERV-A og PERV-B. I tillegg ble det observert at viruspartiklene som ble produsert av 293-cellene, var motstandsdyktige mot inaktivering av det humane komplementsystemet.

I tillegg til sin virologiske betydning er PK(15)-cellelinjen også en egnet vert for transfeksjonsapplikasjoner. På grunn av sine adherente vekstegenskaper er den svært verdifull i ulike forsknings- og forskningsmiljøer.

**Organism** Gris

**Tissue** Nyre

**Synonyms** PK(15), PK (15), PK 15, PK15, Porcine Kidney-15

## Kjennetegn

**Breed/Subspecies** Hampshire

**Age** Voksen

**Gender** Mann

**Morphology** Epitel-lignende

**Growth properties** Monolag, vedheftende

## Regulatoriske data

**Citation** PK-15 (Cytion-katalognummer 607426)

## PK-15-celler | 607426

<b>Biosafety level</b>	1
<b>NCBI_TaxID</b>	9823
<b>CellosaurusAccession</b>	CVCL_2160

## Biomolekylære data

<b>Viruses</b>	PCV1 (Porcint circovirus 1) positiv, PCV2 negativ, PCV3 negativ
<b>Virus susceptibility</b>	Svinekolera, afrikansk svinepest, vesikulært eksantem hos svin, munn- og klovsyke (FMDV), vesikulær stomatitt (Indiana), vaksinia, reovirus 2, 3, adenovirus 4, 5, coxsackievirus B2, B3, B4, B5, B6
<b>Virus resistance</b>	Poliovirus 2
<b>Reverse transcriptase</b>	Positiv

## Håndtering

<b>Culture Medium</b>	EMEM (MEM Eagle), m: 2 mM L-Glutamin, m: 2,2 g/L NaHCO <sub>3</sub> , m: EBSS (Cytion artikkelnummer 820100a)
<b>Supplements</b>	Suppler mediet med 10 % FBS og 1 % NEAA
<b>Dissociation Reagent</b>	Accutase

**Subculturing** Fjern det gamle mediet fra de adherente cellene, og vask dem med PBS uten kalsium og magnesium. Bruk 3-5 ml PBS for T25-kolber og 5-10 ml for T75-kolber. Dekk deretter cellene helt med Accutase, med 1-2 ml for T25-kolber og 2,5 ml for T75-kolber. La cellene inkubere i romtemperatur i 8-10 minutter for å løsne dem. Etter inkubasjon blandes cellene forsiktig med 10 ml medium for å resuspendere dem, og sentrifuger deretter ved 300xg i 3 minutter. Kast supernatanten, resuspendere cellene i nytt medium, og overfør dem til nye kolber som allerede inneholder nytt medium.

**Split ratio** Et forhold på 1:2 til 1:4 anbefales

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

**Fluid renewal** 2 til 3 ganger per uke

## PK-15-celler | 607426

**Post-Thaw Recovery**

La cellene restituere seg fra fryseprosessen i minst 24 til 48 timer.

**Freeze medium**

Som kryopreserveringsmedium bruker vi komplett vekstmedium (inkludert FBS) + 10 % DMSO for tilstrekkelig levedyktighet etter opptining, eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som inneholder optimaliserte osmoteskyttende midler og metabolske stabilisatorer for å øke utvinningen og redusere kryoundusert stress.

**Thawing and Culturing Cells**

1. Kontroller at hetteglasset er dypfrost ved levering, ettersom cellene sendes på tørris for å opprettholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved mottak skal hetteglasset enten oppbevares umiddelbart ved temperaturer under  $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$  for å sikre at cellenes integritet bevares, eller gå videre til trinn 3 hvis umiddelbar dyrking er nødvendig.
3. Ved umiddelbar dyrking tiner du hetteglasset raskt ved å senke det ned i et  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$  varmt vannbad med rent vann og et antimikrobielt middel, og røre forsiktig i 40-60 sekunder til det blir en liten isklump igjen.
4. Utfør alle påfølgende trinn under sterile forhold i en strømningshette, og desinfiser kryoflasken med 70 % etanol før du åpner den.
5. Åpne det desinfiserte hetteglasset forsiktig, og overfør cellesuspensjonen til et 15 ml sentrifugerør som inneholder 8 ml romtemperert dyrkingsmedium, og bland forsiktig.
6. Sentrifuger blandingen ved  $300 \times g$  i 3 minutter for å separere cellene, og kast supernatanten som inneholder rester av frysemedium, forsiktig.
7. Resuspender cellepelletten forsiktig i 10 ml nytt dyrkningsmedium. For adherente celler, del suspensjonen mellom to T25-kulturkolber; for suspensjonskulturer, overfør alt mediet til én T25-kolbe for å fremme effektiv celleinteraksjon og vekst.
8. Følg etablerte subkulturprotokoller for fortsatt vekst og vedlikehold av cellelinjen, noe som sikrer pålitelige eksperimentelle resultater.

**Incubation Atmosphere**

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$ , 5 %  $\text{CO}_2$ , befuktet atmosfære.

**Flask Coating**

Ingen

**Freezing Procedure**

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca.  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$  under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

**PK-15-celler | 607426**

**Shipping  
Conditions**

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca. -78 °C under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

**Storage  
Conditions**

For langtidsoppbevaring plasseres hetteglassene i flytende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Lagring ved -80 °C er kun akseptabelt som et kort mellomtrinn før overføring til flytende nitrogen.

**Kvalitetskontroll / Genetisk profil / HLA**

**Sterility**

Mykoplasma-kontaminering utelukkes ved hjelp av både PCR-baserte analyser og luminescensbaserte metoder for påvisning av mykoplasma.

For å sikre at det ikke finnes bakterie-, sopp- eller gjærkontaminering, blir cellekulturene inspisert visuelt hver dag.

**STR-profil**

**Amelogenin:** x,x