

Komórki PK-15 | 607426**Informacje ogólne****Description**

Linia komórkowa PK(15), pochodząca z PK-2A, linii komórkowej utworzonej w 1955 r. z nerki dorosłej świni, jest zakażona onkowirusem świń typu C (wcześniej znanym jako endogeny retrovirus świń, PERV), który jest sklasyfikowany jako czynnik grupy ryzyka 2. Genom komórki gospodarza zawiera 62 kopie genu *pol*, który koduje odwrotną transkryptazę i inne białka.

Początkowo cząsteczki wirusa wytwarzane przez linię komórkową PK(15) zostały opisane jako wadliwe i niezakaźne dla różnych linii komórkowych ssaków, w tym ludzkiej linii komórkowej, co doprowadziło do sklasyfikowania jej jako linii komórkowej grupy ryzyka 1. Późniejsze badania wykazały jednak, że ludzkie komórki 293 mogą być produktywnie infekowane przez bezkomórkowy supernatant komórek PK(15). Odkrycie to doprowadziło do przeklasyfikowania linii komórkowej PK(15) przez niemiecką Centralną Komisję Bezpieczeństwa Biologicznego (ZKBS) w listopadzie 2018 roku.

Analizy PCR ujawniły, że przeniesione wirusy należały do podtypów politropowych PERV-A i PERV-B. Dodatkowo zaobserwowano, że cząsteczki wirusa produkowane przez komórki 293 były odporne na inaktywację przez ludzki układ dopełniacza.

Oprócz znaczenia wirusologicznego, linia komórkowa PK(15) służy również jako odpowiedni gospodarz do zastosowań transfekcyjnych. Ze względu na swoje właściwości wzrostu adherentnego jest bardzo cenna w różnych badaniach i warunkach eksperymentalnych.

Organism Świnia**Tissue** Nerka**Synonyms** PK(15), PK (15), PK 15, PK15, Porcine Kidney-15**Charakterystyka****Breed/Subspecies** Hampshire**Age** Dorosły**Gender** Męczyzna**Morphology** Podobny do nabłonka**Growth properties** Monowarstwa, przylegająca**Dane regulacyjne**

Komórki PK-15 | 607426**Citation** PK-15 (numer katalogowy Cytion 607426)**Biosafety level**

Poziom bezpieczeństwa biologicznego 1.

Linia komórkowa zawiera sekwencje onkowirusa świni typu C (PCOV) i ich transkrypty, a możliwość wydzielania wirusa nie może być wykluczona. W Niemczech wirusy te są klasyfikowane jako BSL 1 dla ludzi i BSL 2 dla zwierząt (TRBA 462). Bezpieczeństwa Biologicznego (ZKBS) przypisuje jednak tym wirusom i zainfekowanym liniom komórkowym klasyfikację BSL 2, gdy są one wykorzystywane do celów modyfikacji genetycznej.

NCBI_TaxID 9823**CellosaurusAccession** CVCL_2160**Dane biomolekularne****Viruses** PCV1 (cirkowirus świń 1) dodatni, PCV2 ujemny, PCV3 ujemny**Virus susceptibility** Cholera świń, afrykański pomór świń, pęcherzykowy wysyp świń, pryszczycza (FMDV), pęcherzykowe zapalenie jamy ustnej (Indiana), krowianka, reowirus 2, 3, adenowirus 4, 5, coxsackievirus B2, B3, B4, B5, B6**Virus resistance** Poliowirus 2**Reverse transcriptase** Pozytywny**Obsługa****Culture Medium** EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-glutamina, w: 2,2 g/L NaHCO₃, w: EBSS (numer artykułu Cytion 820100a)**Supplements** Uzupelnic podloze 10% FBS i 1% NEAA**Dissociation Reagent** Accutase

Komórki PK-15 | 607426

Subculturing	Usuń starą pożywkę z przylegających komórek i przemyj je PBS, który nie zawiera wapnia i magnezu. W przypadku kolb T25 należy użyć 3-5 ml PBS, a w przypadku kolb T75 5-10 ml. Następnie całkowicie pokryj komórki Accutase, używając 1-2 ml dla kolb T25 i 2,5 ml dla kolb T75. Pozwól komórkom inkubować w temperaturze pokojowej przez 8-10 minut, aby je oddzielić. Po inkubacji delikatnie wymieszaj komórki z 10 ml pożywki, aby ponownie je zawiesić, a następnie odwiruj przy 300xg przez 3 minuty. Odrzuć supernatant, ponownie zawiesić komórki w świeżej pożywce i przenieść je do nowych kolb zawierających już świeżą pożywkę.
Split ratio	Zalecany jest stosunek 1:2 do 1:4
Seeding density	2×10^4 komórek/cm ²
Fluid renewal	2 do 3 razy w tygodniu
Post-Thaw Recovery	Pozostawić komórki do regeneracji po procesie zamrażania przez co najmniej 24 do 48 godzin.
Freeze medium	Jako pożywkę do kriokonserwacji należy stosować kompletną pożywkę wzrostową (w tym FBS) + 10% DMSO w celu zapewnienia odpowiedniej żywotności po rozmrożeniu lub CM-1 (numer katalogowy Cytion 800100), która zawiera zoptymalizowane osmoprotektanty i stabilizatory metaboliczne w celu zwiększenia regeneracji i zmniejszenia stresu wywołanego kriokonserwacją.

Komórki PK-15 | 607426

Thawing and Culturing Cells

1. Upewnij się, że fiolka pozostaje głęboko zamrożona w momencie dostawy, ponieważ komórki są wysyłane w suchym lodzie, aby utrzymać optymalną temperaturę podczas transportu.
2. Po otrzymaniu należy natychmiast przechowywać fiolkę w temperaturze poniżej -150°C , aby zapewnić zachowanie integralności komórek, lub przejść do kroku 3, jeśli wymagana jest natychmiastowa hodowla.
3. W przypadku natychmiastowej hodowli należy szybko rozmrozić fiolkę, zanurzając ją w łaźni wodnej o temperaturze 37°C z czystą wodą i środkiem przeciwdrobnoustrojowym, delikatnie mieszając przez 40-60 sekund, aż pozostanie niewielka grudka lodu.
4. Wykonaj wszystkie kolejne kroki w sterylnych warunkach w kapturze przepływowej, dezynfekując fiolkę 70% etanolem przed otwarciem.
5. Ostrożnie otworzyć zdezynfekowaną fiolkę i przenieść zawiesinę komórek do 15 ml probówki wirówkowej zawierającej 8 ml podłoża hodowlanego o temperaturze pokojowej, delikatnie mieszając.
6. Wirować mieszaninę z prędkością $300 \times g$ przez 3 minuty w celu oddzielenia komórek i ostrożnie odrzucić supernatant zawierający pozostałości pożywki do zamrażania.
7. Delikatnie ponownie zawiesić osad komórek w 10 ml świeżego podłoża hodowlanego. W przypadku komórek przylegających, rozdzielić zawiesinę pomiędzy dwie kolby hodowlane T25; w przypadku hodowli zawieszonych, przenieść całą pożywkę do jednej kolby T25 w celu promowania skutecznej interakcji i wzrostu komórek.
8. Przestrzegaj ustalonych protokołów podhodowli w celu ciągłego wzrostu i utrzymania linii komórkowej, zapewniając wiarygodne wyniki eksperymentów.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , nawilżona atmosfera.

Flask Coating

W celu zapewnienia optymalnego przylegania i żywotności po rozmrożeniu zalecamy stosowanie **kolb lub płytek pokrytych kolagenem**.

Freezing Procedure

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolkę do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Komórki PK-15 | 607426

Shipping Conditions

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiołki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Storage Conditions

W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiołki w ciekłym azocie w fazie lotnej w temperaturze od -150 do -196 °C. Przechowywanie w temperaturze -80 °C jest dopuszczalne tylko jako krótki etap przejściowy przed przeniesieniem do ciekłego azotu.

Kontrola jakości / Profil genetyczny / HLA

Sterility

Zanieczyszczenie mykoplazmą jest wykluczane przy użyciu zarówno testów opartych na PCR, jak i metod wykrywania mykoplazmy opartych na luminescencji.

Aby upewnić się, że nie ma zanieczyszczenia bakteriami, grzybami lub drożdżami, hodowle komórkowe są poddawane codziennym kontrolom wizualnym.

Profil STR

Amelogenin: x,x