

Bunky PK-15 | 607426**Všeobecné informácie****Description**

Bunková línia PK(15), odvodená od bunkovej línie PK-2A, ktorá bola vytvorená v roku 1955 z obličiek dospelých ošípaných, je infikovaná onkovírusom ošípaných typu C (predtým známym ako endogénny retrovírus ošípaných, PERV), ktorý je klasifikovaný ako pôvodca rizika skupiny 2. Genóm hostiteľskej bunky obsahuje 62 kópií génu *pol*, ktorý kóduje reverznú transkriptázu a ďalšie proteíny.

Pôvodne boli vírusové častice produkované bunkovou líniou PK(15) opísané ako defektné a neinfekčné pre rôzne bunkové línie cicavcov vrátane ľudskej bunkovej línie, čo viedlo k jej zaradeniu do rizikovej skupiny 1. Následné štúdie však preukázali, že ľudské bunky 293 môžu byť produktívne infikované bezbunkovým supernatantom buniek PK(15). Toto zistenie viedlo k tomu, že Nemecká ústredná komisia pre biologickú bezpečnosť (ZKBS) v novembri 2018 zmenila klasifikáciu bunkovej línie PK(15).

Analýzy PCR odhalili, že prenesené vírusy patrili k polytropným podtypom PERV-A a PERV-B. Okrem toho sa zistilo, že vírusové častice produkované bunkami 293 boli odolné voči inaktivácii ľudským komplementovým systémom.

Okrem svojho virologického významu slúži bunková línia PK(15) aj ako vhodný hostiteľ na transfekčné aplikácie. Vďaka svojim adherentným rastovým vlastnostiam je veľmi cenná v rôznych výskumných a experimentálnych podmienkach.

Organism Ošípané

Tissue Obličky

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

Charakteristika

Breed/Subspecies Hampshire

Age Dospelí

Gender Muži

Morphology Epitelu podobné

Growth properties Monovrstva, priliehajúca

Regulačné údaje

Citation PK-15 (katalógové číslo Cytion 607426)

Bunky PK-15 | 607426**Biosafety level**

Úroveň biologickej bezpečnosti 1.

Bunková línia obsahuje sekvencie onkovírusu typu C (PCOV) a ich transkripty a nemožno vylúčiť možnosť vylučovania vírusu. V Nemecku sú tieto vírusy zaradené do kategórie BSL 1 pre ľudí a BSL 2 pre zvieratá (TRBA 462). Nemecký ústredný výbor pre biologickú bezpečnosť (ZKBS) však týmto vírusom a infikovaným bunkovým líniami priraduje klasifikáciu BSL 2, ak sa používajú na účely genetickej modifikácie.

NCBI_TaxID

9823

CellosaurusAccession

CVCL_2160

Biomolekulárne údaje**Viruses**

PCV1 (prasací cirkovírus 1) pozitívny, PCV2 negatívny, PCV3 negatívny

Virus susceptibility

Cholera ošipaných, africký mor ošipaných, vezikulárny exantém ošipaných, slintačka a krívačka (FMDV), vezikulárna stomatitída (Indiana), vakcína, reovírus 2, 3, adenovírus 4, 5, coxsackievirus B2, B3, B4, B5, B6

Virus resistance

Poliovírus 2

Reverse transcriptase

Pozitívne

Spracovanie**Culture Medium**

EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamín, w: 2,2 g/L NaHCO₃, w: EBSS (Cytion číslo článku 820100a)

Supplements

Doplňte médium o 10% FBS a 1% NEAA

Dissociation Reagent

Accutase

Subculturing

Odstráňte staré médium z adherovaných buniek a premyte ich PBS, ktorý neobsahuje vápnik a horčík. Pre banky T25 použite 3 - 5 ml PBS a pre banky T75 použite 5 - 10 ml. Potom bunky úplne pokryte Accutase, pričom použite 1 - 2 ml pre banky T25 a 2,5 ml pre banky T75. Nechajte bunky inkubovať pri izbovej teplote 8-10 minút, aby sa oddelili. Po inkubácii jemne premiešajte bunky s 10 ml média, aby boli znovu suspendované, a potom ich 3 minúty odstredíte pri 300xg. Supernatant zlikvidujte, bunky znovu rozmiešajte v čerstvom médiu a preneste ich do nových fliaš, ktoré už obsahujú čerstvé médium.

Bunky PK-15 | 607426

Split ratio	Odporúča sa pomer 1:2 až 1:4
Seeding density	2×10^4 buniek/cm ²
Fluid renewal	2 až 3-krát týždenne
Post-Thaw Recovery	Nechajte bunky zotaviť sa z procesu zmrazovania aspoň 24 až 48 hodín.
Freeze medium	Ako médium na kryokonzerváciu použite kompletne rastové médium (vrátane FBS) + 10 % DMSO na dosiahnutie primeranej životaschopnosti po rozmrazení alebo CM-1 (katalógové číslo 800100 spoločnosti Cytion), ktoré obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory na zlepšenie obnovy a zníženie stresu spôsobeného kryom.

Thawing and Culturing Cells

1. Overte si, že injekčná liekovka zostane pri doručení hlboko zmrazená, pretože bunky sa prepravujú na suchom ľade, aby sa počas prepravy udržala optimálna teplota.
2. Po prijatí buď okamžite uskladnite kryovialku pri teplote nižšej ako -150 °C, aby ste zabezpečili zachovanie bunkovej integrity, alebo prejdite na krok 3, ak je potrebná okamžitá kultivácia.
3. V prípade okamžitej kultivácie injekčnú liekovku rýchlo rozmrazte ponorením do vodného kúpeľa s teplotou 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálnym prostriedkom, pričom ju jemne miešajte 40 - 60 sekúnd, kým nezostane malý ľadový chumáč.
4. Všetky ďalšie kroky vykonajte v sterilných podmienkach v prietokovom digestore a pred otvorením kryovialku dezinfikujte 70 % etanolom.
5. Opatrne otvorte dezinfikovanú fľaštičku a preneste bunkovú suspenziu do 15 ml centrifugačnej skúmavky obsahujúcej 8 ml kultivačného média s izbovou teplotou a jemne premiešajte.
6. Zmes odstreďte pri 300 x g počas 3 minút, aby sa bunky oddelili, a opatrne zlikvidujte supernatant obsahujúci zvyšky zmrazovacieho média.
7. Pelet buniek jemne resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačného média. V prípade adherentných buniek rozdeľte suspenziu medzi dve kultivačné banky T25; v prípade suspenzných kultúr preneste všetko médium do jednej banky T25, aby ste podporili účinnú interakciu a rast buniek.
8. Dodržiavajte zavedené subkultivačné protokoly na nepretržitý rast a udržiavanie bunkovej línie, čím sa zabezpečia spoľahlivé výsledky experimentov.

Bunky PK-15 | 607426

Incubation Atmosphere 37 °C, 5 %_{CO2}, zvlhčená atmosféra.

Flask Coating Na dosiahnutie optimálneho uchytenia a životaschopnosti po rozmrazení odporúčame používať **banky alebo platne s kolagénom**.

Freezing Procedure Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne -78 °C počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

Shipping Conditions Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne -78 °C počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

Storage Conditions Na dlhodobé uchovávanie umiestnite injekčné liekovky do kvapalnej fázy dusíka v pare pri teplote približne -150 až -196 °C. Skladovanie pri teplote -80 °C je prijateľné len ako krátky prechodný krok pred presunom do tekutého dusíka.

Kontrola kvality / Genetický profil / HLA

Sterility Kontaminácia mykoplazmami sa vylučuje pomocou testov založených na PCR a metód detekcie mykoplazmiem založených na luminiscencii.

Aby sa zabezpečilo, že nedošlo ku kontaminácii baktériami, hubami alebo kvasinkami, bunkové kultúry sa denne vizuálne kontrolujú.

STR profile Amelogenin: x,x