

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	1
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 NaHCO ₃ , 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 odstredujte pri 300xg. Supernatant zlikvidujte, bunky znovu rozmiešajte v čerstvom médiu a preneste ich do nových fliaš, ktoré už obsahujú čerstvé médium.

Split ratio Odporúča sa pomer 1:2 až 1:4

Seeding density 2 x 10⁴ buniek/cm²

Fluid renewal 2 až 3-krát týždenne

Bunky PK-15 | 607426

Post-Thaw Recovery

Nechajte bunky zotaviť sa z procesu zmrazovania aspoň 24 až 48 hodín.

Freeze medium

Ako kryokonzervačné médium používame kompletne rastové médium (vrátane FBS) + 10 % DMSO na zabezpečenie primeranej životaschopnosti po rozmrazení alebo CM-1 (katalógové číslo 800100 spoločnosti Cytion), ktoré obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory na zlepšenie regenerácie 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 $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, 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 $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ 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 odstreďujte pri $300 \times g$ 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.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5 % CO_2 , zvlhčená atmosféra.

Flask Coating

Žiadne

Bunky PK-15 | 607426

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