

## Celice PK-15 | 607426

## Splošne informacije

## Description

Celična linija PK(15), ki izhaja iz celične linije PK-2A, ustvarjene leta 1955 iz ledvic odraslega prašiča, je okužena s prašičjim onkovirusom tipa C (prej znanim kot prašičji endogeni retrovirus, PERV), ki je uvrščen v skupino tveganja 2. Genom gostiteljske celice vsebuje 62 kopij gena \*pol\*, ki kodira reverzno transkriptazo in druge beljakovine.

Sprva so bili virusni delci, ki jih proizvaja celična linija PK(15), opisani kot okvarjeni in neinfektivni za različne celične linije sesalcev, vključno s človeško celično linijo, zaradi česar je bila ta celična linija uvrščena v skupino tveganja 1. Vendar so poznejše študije pokazale, da je mogoče človeške celice 293 produktivno okužiti z brezceličnim supernatantom celic PK(15). Zaradi te ugotovitve je nemška osrednja komisija za biološko varnost (ZKBS) novembra 2018 ponovno razvrstila celično linijo PK(15).

Analize PCR so pokazale, da so preneseni virusi pripadali politropnim podtipom PERV-A in PERV-B. Poleg tega je bilo ugotovljeno, da so bili virusni delci, ki so jih proizvedle celice 293, odporni na inaktivacijo s sistemom človeškega komplementa.

Poleg virološkega pomena je celična linija PK(15) tudi primeren gostitelj za aplikacije transfekcije. Zaradi svojih adherentnih lastnosti rasti je zelo dragocena v različnih raziskovalnih in eksperimentalnih okoljih.

**Organism** Prašič

**Tissue** Ledvice

**Synonyms** PK(15), PK (15), PK 15, PK15, prašičja ledvica-15

## Značilnosti

**Breed/Subspecies** Hampshire

**Age** Odrasli

**Gender** Moški

**Morphology** Epitelijam podobni

**Growth properties** Enoslojni, adherentni

## Regulativni podatki

**Citation** PK-15 (kataloška številka Cytion 607426)

## Celice PK-15 | 607426

**Biosafety level**

Stopnja biološke varnosti 1.

Celična linija vsebuje zaporedja onkovirusa tipa C (PCOV) in njihove transkripte, zato ni mogoče izključiti možnosti izločanja virusa. V Nemčiji so ti virusi kategorizirani kot BSL 1 za ljudi in BSL 2 za živali (TRBA 462). Vendar nemški osrednji odbor za biološko varnost (ZKBS) tem virusom in okuženim celičnim linijam, kadar se uporabljajo za namene genskega spreminjanja, dodeli klasifikacijo BSL 2.

**NCBI\_TaxID**

9823

**CellosaurusAccession**

CVCL\_2160

**Biomolekularni podatki****Viruses**

PCV1 (prašičji cirkovirus 1) pozitiven, PCV2 negativen, PCV3 negativen

**Virus susceptibility**

Kolera prašičev, afriška prašičja kuga, vezikularni eksantem prašičev, slinavka in parkljevka (FMDV), vezikularni stomatitis (Indiana), vakcinije, reovirus 2, 3, adenovirus 4, 5, coxsackievirus B2, B3, B4, B5, B6

**Virus resistance**

Poliovirus 2

**Reverse transcriptase**

Pozitivna

**Ravnanje s spletno stranjo****Culture Medium**

EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamin, w: 2,2 g/L NaHCO<sub>3</sub>, w: EBSS (številka izdelka Cytion 820100a)

**Supplements**

Gojišče dopolnite z 10 % FBS in 1 % NEAA

**Dissociation Reagent**

Accutase

**Subculturing**

Odstranite staro gojišče z adherentnih celic in jih sperite s PBS, ki ne vsebuje kalcija in magnezija. Za bučke T25 uporabite 3-5 ml PBS, za bučke T75 pa 5-10 ml. Nato celice popolnoma prekrijte z Accutase, pri čemer uporabite 1-2 ml za bučke T25 in 2,5 ml za bučke T75. Celice pustite inkubirati pri sobni temperaturi 8-10 minut, da se ločijo. Po inkubaciji celice nežno premešajte z 10 ml gojišča, da se ponovno suspendirajo, nato jih 3 minute centrifugirajte pri 300xg. Zavrzite supernatant, ponovno suspendirajte celice v svežem gojišču in jih prenesite v nove bučke, ki že vsebujejo sveže gojišče.

**Split ratio**

Priporoča se razmerje od 1:2 do 1:4

**Celice PK-15 | 607426****Seeding density**  $2 \times 10^4$  celic/cm<sup>2</sup>**Fluid renewal** 2 do 3-krat na teden**Post-Thaw Recovery** Počakajte, da si celice po zamrzovanju opomorejo vsaj 24 do 48 ur.**Freeze medium** Kot gojišče za kriokonzervacijo uporabite popolno rastno gojišče (vključno s FBS) + 10 % DMSO za ustrezno vitalnost po odmrznitvi ali CM-1 (kataloška številka 800100 podjetja Cytion), ki vključuje optimizirane osmoprotektante in presnovne stabilizatorje za izboljšanje okrevanja in zmanjšanje stresa, povzročene s krio.**Thawing and Culturing Cells**

1. Prepričajte se, da je viala ob dostavi globoko zamrznjena, saj se celice pošiljajo na suhem ledu, da se med prevozom ohranijo optimalne temperature.
2. Po prejemu kriovial takoj shranite pri temperaturi pod -150 °C, da zagotovite ohranitev celične celovitosti, ali pa nadaljujte s korakom 3, če je potrebno takojšnje gojenje.
3. Za takojšnje gojenje vialo hitro odtalite tako, da jo potopite v vodno kopel s čisto vodo in protimikrobnim sredstvom pri 37 °C ter 40-60 sekund nežno mešate, dokler ne ostane majhen ledeni kepica.
4. Vse nadaljnje korake izvajajte v sterilnih pogojih v pretočni nape, pred odprtjem pa kriovial razkužite s 70 % etanolom.
5. Previdno odprite razkuženo vialo in celično suspenzijo prenesite v 15-mililitrsko centrifugirno epruveto, ki vsebuje 8 ml gojišča sobne temperature, ter nežno premešajte.
6. Mešanico centrifugirajte pri 300 x g 3 minute, da ločite celice, in previdno zavržite supernatant, ki vsebuje ostanke zamrzovalnega gojišča.
7. Pelet celic nežno ponovno suspendirajte v 10 ml svežega gojišča. Pri adherentnih celicah suspenzijo razdelite med dve bučki T25; pri suspenzijskih kulturah prenesite vse gojišče v eno bučko T25, da spodbudite učinkovito interakcijo in rast celic.
8. Upoštevajte uveljavljene protokole subkultur za nadaljnjo rast in vzdrževanje celične linije ter tako zagotovite zanesljive rezultate poskusov.

**Incubation Atmosphere** 37 °C, 5 % CO<sub>2</sub>, vlažno ozračje.

## Celice PK-15 | 607426

### Flask Coating

Za optimalno pritrditev in sposobnost preživetja po odmrznitvi priporočamo uporabo s **kolagenom prevlečenih bučk ali plošč**.

### Freezing Procedure

Kriokonzervirane celične linije se pošiljajo na suhem ledu v potrjeni, izolirani embalaži z zadostno količino hladilnega sredstva, da se med prevozom vzdržuje približno  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Ob prejemu takoj preglejte embalažo in vialo nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.

### Shipping Conditions

Kriokonzervirane celične linije se pošiljajo na suhem ledu v potrjeni, izolirani embalaži z zadostno količino hladilnega sredstva, da se med prevozom vzdržuje približno  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Ob prejemu takoj preglejte embalažo in vialo nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.

### Storage Conditions

Za dolgotrajno shranjevanje vialo postavite v tekoči dušik v parni fazi pri približno  $-150$  do  $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Shranjevanje pri  $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$  je sprejemljivo le kot kratek vmesni korak pred prenosom v tekoči dušik.

## Nadzor kakovosti / Genetski profil / HLA

### Sterility

Kontaminacija z mikoplazmo se izključi z uporabo testov na podlagi PCR in metod za odkrivanje mikoplazme na podlagi luminiscence.

Da se zagotovi, da ni kontaminacije z bakterijami, glivami ali kvasovkami, se celične kulture dnevno vizualno pregledujejo.

### Profil STR

**Amelogenin:** x,x