

## PK-15 Hücreleri | 607426

## Genel bilgi

## Description

1955 yılında yetişkin bir domuzun böbreğinden elde edilen bir hücre hattı olan PK-2A'dan türetilen PK(15) hücre hattı, risk grubu 2 ajanı olarak sınıflandırılan domuz tip-C onkovirüsü (eski adıyla domuz endojen retrovirüsü, PERV) ile enfekte edilmiştir. Konak hücre genomu, ters transkriptaz ve diğer proteinleri kodlayan \*pol\* geninin 62 kopyasını içerir.

Başlangıçta, PK(15) hücre hattı tarafından üretilen virüs partikülleri, bir insan hücre hattı da dahil olmak üzere çeşitli memeli hücre hatları için kusurlu ve bulaşıcı olmayan olarak tanımlanmış ve risk grubu 1 hücre hattı olarak sınıflandırılmasına yol açmıştır. Ancak daha sonra yapılan çalışmalar, insan 293 hücrelerinin PK(15) hücrelerinin hücresiz süpernatantı tarafından verimli bir şekilde enfekte edilebileceğini göstermiştir. Bu bulgu, PK(15) hücre hattının Kasım 2018'de Alman Biyolojik Güvenlik Merkez Komisyonu (ZKBS) tarafından yeniden sınıflandırılmasıyla sonuçlanmıştır.

PCR analizleri, bulaşan virüslerin politropik alt tipler olan PERV-A ve PERV-B'ye ait olduğunu ortaya koymuştur. Ayrıca, 293 hücre tarafından üretilen virüs partiküllerinin insan kompleman sistemi tarafından inaktivasyona dirençli olduğu gözlemlenmiştir.

Virolojik öneminin yanı sıra, PK(15) hücre hattı transfeksiyon uygulamaları için de uygun bir konak olarak hizmet vermektedir. Yapışık büyüme özellikleri nedeniyle, çeşitli araştırma ve deneysel ortamlarda oldukça değerlidir.

**Organism** Domuz

**Tissue** Böbrek

**Synonyms** PK(15), PK (15), PK 15, PK15, Domuz Böbreği-15

## Özellikler

**Breed/Subspecies** Hampshire

**Age** Yetişkin

**Gender** Erkek

**Morphology** Epitel benzeri

**Growth properties** Tek katmanlı, yapışık

## Düzenleyici Veriler

**Citation** PK-15 (Cytion katalog numarası 607426)

## PK-15 Hücreleri | 607426

Biosafety level 1

NCBI\_TaxID 9823

CellosaurusAccession CVCL\_2160

## Biyomoleküler Veriler

Viruses PCV1 (Porcine circovirus 1) pozitif, PCV2 negatif, PCV3 negatif

Virus susceptibility Domuz kolerası, Afrika domuz ateşi, domuz veziküler ekzantemi, şap hastalığı (FMDV), veziküler stomatit (Indiana), vaccinia, reovirus 2, 3, adenovirus 4, 5, coxsackievirus B2, B3, B4, B5, B6

Virus resistance Poliovirüs 2

Reverse transcriptase Pozitif

## Elleçleme

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

Supplements Ortamı %10 FBS ve %1 NEAA ile takviye edin

Dissociation Reagent Accutase

**Subculturing** Yapışık hücrelerden eski ortamı çıkarın ve kalsiyum ve magnezyum içermeyen PBS ile yıkayın. T25 şişeleri için 3-5 ml PBS ve T75 şişeleri için 5-10 ml kullanın. Ardından, T25 flasklar için 1-2 ml ve T75 flasklar için 2,5 ml kullanarak hücreleri Accutase ile tamamen kaplayın. Hücreleri ayırmak için oda sıcaklığında 8-10 dakika inkübasyona bırakın. İnkübasyondan sonra, hücreleri yeniden süspansiyon etmek için 10 ml besiyeriyle hafifçe karıştırın, ardından 300xg'de 3 dakika santrifüjleyin. Süpernatantı atın, hücreleri taze besiyerinde yeniden süspansiyon edin ve zaten taze besiyeri içeren yeni şişelere aktarın.

Split ratio 1:2 ile 1:4 arası bir oran önerilir

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

Fluid renewal haftada 2 ila 3 kez

**PK-15 Hücreleri | 607426****Post-Thaw Recovery**

Hücrelerin dondurma işleminden sonra en az 24 ila 48 saat boyunca toparlanmasına izin verin.

**Freeze medium**

Kriyoprezervasyon ortamı olarak, yeterli çözülme sonrası canlılık için tam büyüme ortamı (FBS dahil) + %10 DMSO veya iyileşmeyi artırmak ve kriyo-indüklenmiş stresi azaltmak için optimize edilmiş ozmoprotektanlar ve metabolik stabilizatörler içeren CM-1 (Cytion katalog numarası 800100) kullanıyoruz.

**Thawing and Culturing Cells**

1. Hücreler taşıma sırasında optimum sıcaklıkları korumak için kuru buz üzerinde gönderildiğinden, flakonun teslimat sırasında derin dondurulmuş halde kaldığını teyit edin.
2. Teslim aldıktan sonra, hücresel bütünlüğün korunmasını sağlamak için kriyovialı hemen -150°C'nin altındaki sıcaklıklarda saklayın veya hemen kültürlenme gerekiyorsa 3. adıma geçin.
3. Derhal kültürlenme için flakonu temiz su ve antimikrobiyal bir madde içeren 37°C'lik bir su banyosuna daldırıp küçük bir buz kümesi kalana kadar 40-60 saniye boyunca hafifçe çalkalayarak hızlıca çözün.
4. Sonraki tüm adımları steril koşullar altında bir akış başlığı içinde gerçekleştirin ve açmadan önce kriyoviyalleri %70 etanol ile dezenfekte edin.
5. Dezenfekte edilmiş flakonu dikkatlice açın ve hücre süspansiyonunu 8 ml oda sıcaklığında kültür ortamı içeren 15 ml'lik bir santrifüj tüpüne aktarın ve hafifçe karıştırın.
6. Hücreleri ayırmak için karışımı 300 x g'de 3 dakika santrifüjleyin ve artık dondurma ortamı içeren süpernatantı dikkatlice atın.
7. Hücre peletini 10 ml taze kültür ortamında yavaşça yeniden süspansiyon edin. Yapışık hücreler için, süspansiyonu iki T25 kültür şişesi arasında bölün; süspansiyon kültürleri için, etkili hücre etkileşimini ve büyümesini teşvik etmek üzere tüm ortamı tek bir T25 şişesine aktarın.
8. Hücre hattının sürekli büyümesi ve bakımı için belirlenmiş alt kültür protokollerine uyun ve güvenilir deneysel sonuçlar elde edin.

**Incubation Atmosphere**

37°C, %5<sub>CO2</sub>, nemlendirilmiş atmosfer.

**Flask Coating**

Yok

**Freezing Procedure**

Kriyoprezerve edilmiş hücre hatları, nakliye boyunca yaklaşık -78 °C'yi korumak için yeterli soğutucu akışkan içeren, onaylanmış, yalıtılmış ambalajlarda kuru buz üzerinde gönderilir. Teslim aldığınızda, kabı hemen inceleyin ve flakonları gecikmeden uygun depoya aktarın.

**Shipping  
Conditions**

Kriyoprezerve edilmiş hücre hatları, nakliye boyunca yaklaşık -78 °C'yi korumak için yeterli soğutucu akışkan içeren, onaylanmış, yalıtılmış ambalajlarda kuru buz üzerinde gönderilir. Teslim aldığınızda, kabı hemen inceleyin ve flakonları gecikmeden uygun depoya aktarın.

**Storage  
Conditions**

Uzun süreli muhafaza için flakonları yaklaşık -150 ila -196 °C'de buhar fazlı sıvı nitrojen içine yerleştirin. 80 °C'de saklama yalnızca sıvı nitrojene aktarılmadan önce kısa bir ara adım olarak kabul edilebilir.

**Kalite kontrol / Genetik profil / HLA**

**Sterility**

Mikoplazma kontaminasyonu hem PCR tabanlı tahliller hem de lüminesans tabanlı mikoplazma tespit yöntemleri kullanılarak dışlanır.

Bakteriyel, fungal veya maya kontaminasyonu olmadığından emin olmak için hücre kültürleri günlük görsel incelemelere tabi tutulur.

**STR profili**

**Amelogenin:** x,x