

## 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

Biyogüvenlik seviyesi 1.

Hücre hattı, Porcine tip-C onkovirüs (PCOV) dizilerini ve bunların transkriptlerini barındırmaktadır ve viral salgılama olasılığı göz ardı edilemez. Almanya'da bu virüsler insanlar için BSL 1 ve hayvanlar için BSL 2 olarak kategorize edilmektedir (TRBA 462). Bununla birlikte, Alman Biyolojik Güvenlik Merkez Komitesi (ZKBS), genetik modifikasyon amacıyla kullanıldığında bu virüslere ve enfekte hücre hatlarına BSL 2 sınıflandırması atamaktadır.

## 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.

**PK-15 Hücreleri | 607426****Split ratio** 1:2 ile 1:4 arası bir oran önerilir**Seeding density** 2 x 10.000 hücre/cm<sup>2</sup>**Fluid renewal** haftada 2 ila 3 kez**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) kullanın.**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 kültürleme gerekiyorsa 3. adıma geçin.
3. Derhal kültürleme 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 pelletini 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.

## PK-15 Hücreleri | 607426

### Flask Coating

Çözüldükten sonra optimum tutunma ve canlılık için **Kolajen kaplı flasklar veya plakalar** kullanmanızı öneririz.

### 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