

## Клітини ПК-15 | 607426

## Загальна інформація

## Description

Клітинна лінія РК(15), отримана з РК-2А, клітинної лінії, створеної в 1955 році з нирки дорослої свині, інфікована онковірусом свиней типу С (раніше відомий як свинячий ендегенний ретровірус, PERV), який класифікується як агент групи ризику 2. Геном клітини-хазяїна містить 62 копії гена \*pol\*, який кодує зворотну транскриптазу та інші білки.

Спочатку вірусні частинки, що продукуються клітинною лінією РК(15), були описані як дефектні і неінфекційні для різних клітинних ліній ссавців, включаючи клітинну лінію людини, що призвело до її класифікації як клітинної лінії групи ризику 1. Однак подальші дослідження продемонстрували, що 293 клітини людини можуть бути продуктивно інфіковані безклітинним супернатантом клітин РК(15). Цей висновок призвів до рекласифікації клітинної лінії РК(15) Центральною комісією з біологічної безпеки Німеччини (ZKBS) у листопаді 2018 року.

ПЛР-аналіз показав, що передані віруси належать до політропних підтипів PERV-A та PERV-B. Крім того, було виявлено, що вірусні частинки, вироблені 293 клітинами, були стійкими до інактивації системою комплементу людини.

На додаток до свого вірусологічного значення, клітинна лінія РК(15) також слугує придатним хазяїном для трансфекції. Завдяки своїм властивостям адгезивного росту вона є дуже цінною в різних дослідницьких та експериментальних умовах.

**Organism** Свиня

**Tissue** Нирка

**Synonyms** ПК(15), ПК (15), ПК 15, ПК 15, ПК15, Свиняча нирка-15

## Характеристики

**Breed/Subspecies** Гемпшир

**Age** Дорослий

**Gender** Чоловік

**Morphology** Епітеліальноподібні

**Growth properties** Одношаровий, адгезійний

## Нормативні дані

## Клітини ПК-15 | 607426

**Citation** ПК-15 (номер за каталогом Cytion 607426)

**Biosafety level**

Рівень біобезпеки 1.

Клітинна лінія містить послідовності онковірусу свиней типу С (PCOV) та їхні транскрипти, і не можна виключити можливість секреції вірусу. У Німеччині ці віруси класифікуються як BSL 1 для людей і BSL 2 для тварин (TRBA 462). Однак Німецький центральний комітет з біологічної безпеки (ZKBS) присвоює цим вірусам та інфікованим клітинним лініям класифікацію BSL 2, якщо вони використовуються з метою генетичної модифікації.

**NCBI\_TaxID** 9823

**CellosaurusAccession** CVCL\_2160

**Біомолекулярні дані**

**Viruses** PCV1 (цирковірус свиней 1) позитивний, PCV2 негативний, PCV3 негативний

**Virus susceptibility** Холера свиней, африканська чума свиней, везикулярна екзантема свиней, ящур, везикулярний стоматит (Індіана), вакцина, реовірус 2, 3, аденовірус 4, 5, вірус Коксаки B2, B3, B4, B5, B6

**Virus resistance** Поліовірус 2

**Reverse transcriptase** Позитивно

**Обробка**

**Culture Medium** EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-глутамін, w: 2,2 г/л NaHCO<sub>3</sub>, w: EBSS (цит. номер 820100a)

**Supplements** Додайте до середовища 10% FBS та 1% NEAA

**Dissociation Reagent** Аккутаза

**Клітини ПК-15 | 607426**

**Subculturing** Видаліть старе середовище з прилиплих клітин і промийте їх PBS, в якому бракує кальцію і магнію. Для колб T25 використовуйте 3-5 мл PBS, а для колб T75 - 5-10 мл. Потім повністю покрийте клітини аккутазою, використовуючи 1-2 мл для колб T25 і 2,5 мл для колб T75. Залиште клітини інкубуватися при кімнатній температурі протягом 8-10 хвилин, щоб відокремити їх. Після інкубації обережно змішайте клітини з 10 мл середовища, щоб ресуспендувати їх, а потім центрифугуйте при 300xg протягом 3 хвилин. Викиньте надосадову рідину, ресуспендуйте клітини у свіжому середовищі та перенесіть їх у нові колби, які вже містять свіже середовище.

**Split ratio** Рекомендується співвідношення від 1:2 до 1:4

**Seeding density**  $2 \times 10^4$  клітин/см<sup>2</sup>

**Fluid renewal** 2-3 рази на тиждень

**Post-Thaw Recovery** Дайте клітинам відновитися після процесу заморожування протягом щонайменше 24-48 годин.

**Freeze medium** Як середовище кріоконсервування використовуйте повне живильне середовище (включаючи FBS) + 10% ДМСО для адекватної життєздатності після відтавання або CM-1 (номер за каталогом Cytion 800100), яке містить оптимізовані осмопротектори та метаболічні стабілізатори для прискорення відновлення та зменшення кріоіндукованого стресу.

## Клітини ПК-15 | 607426

### Thawing and Culturing Cells

1. Переконайтеся, що віал залишається глибоко замороженим після доставки, оскільки клітини транспортуються на сухому льоду для підтримання оптимальної температури під час транспортування.
2. Після отримання негайно зберігайте криовіал при температурі нижче  $-150^{\circ}\text{C}$ , щоб забезпечити збереження клітинної цілісності, або перейдіть до кроку 3, якщо потрібне негайне культивування.
3. Для негайного культивування швидко розморозьте віал, зануливши його у водяну баню з чистою водою і антимікробним засобом при температурі  $37^{\circ}\text{C}$ , обережно перемішуючи протягом 40-60 секунд, поки не залишиться невелика крижана грудка.
4. Всі наступні кроки виконуйте в стерильних умовах у проточній витяжній шафі, дезінфікуючи криовіал 70% етанолом перед відкриттям.
5. Обережно відкрийте продезінфікований флакон і перенесіть клітинну суспензію в 15 мл центрифужну пробірку, що містить 8 мл культурального середовища кімнатної температури, обережно перемішуючи.
6. Відцентрифугуйте суміш при  $300 \times g$  протягом 3 хвилин, щоб відокремити клітини, і обережно викиньте надосадову рідину, що містить залишки заморожувального середовища.
7. Обережно ресуспендуйте осад клітин у 10 мл свіжого культурального середовища. Для адгезивних клітин розділіть суспензію між двома культуральними колбами T25; для суспензійних культур перенесіть все середовище в одну колбу T25, щоб сприяти ефективній взаємодії та росту клітин.
8. Дотримуйтеся встановлених протоколів субкультивування для продовження росту і підтримання клітинної лінії, забезпечуючи надійні результати експерименту.

### Incubation Atmosphere

$37^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , волога атмосфера.

### Flask Coating

Для оптимального прикріплення та життєздатності після розморожування ми рекомендуємо використовувати **колби або пластини з колагеновим покриттям**.

### Freezing Procedure

Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевіреній ізольованій упаковці з достатньою кількістю холодоагенту для підтримання температури приблизно  $-78^{\circ}\text{C}$  під час транспортування. При отриманні негайно огляньте контейнер і негайно перемістіть віали у відповідне місце для зберігання.

## Клітини ПК-15 | 607426

### Shipping Conditions

Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевірній ізольованій упаковці з достатньою кількістю холодоагенту для підтримання температури приблизно -78 °C під час транспортування. При отриманні негайно огляньте контейнер і негайно перемістіть віали у відповідне місце для зберігання.

### Storage Conditions

Для тривалого зберігання помістіть флакони в парофазний рідкий азот при температурі від -150 до -196 °C. Зберігання при -80 °C допустиме лише як короткий проміжний етап перед перенесенням у рідкий азот.

## Контроль якості / Генетичний профіль / HLA

### Sterility

Зараження мікоплазмою виключається за допомогою аналізів на основі ПЛР та люмінесцентних методів виявлення мікоплазми.

Щоб переконатися у відсутності бактеріального, грибового або дріжджового забруднення, клітинні культури піддаються щоденному візуальному контролю.

### Профіль STR

**Amelogenin:** x,x