Product sheet

Клетки LLC-MK2 (оригинални) | 305149

Обща информация

Description	LLC-MK2 е непрекъсната епителна клетъчна линия, създадена от бъбречната тъкан на възрастни маймуни резус (*Macaca mulatta*). Тази клетъчна линия първоначално е изолирана през 50-те години на миналия век чрез трипсинизиране на обща бъбречна тъкан от шест маймуни резус. Клетките LLC-MK2 показват характеристики на адхезивен растеж и са широко използвани във вирусологията поради високата им чувствителност към различни вируси, включително вирус на диария по говедата 1, човешки полиовирус 1 и човешки коксакивирус B4. Произходът на клетъчната линия и нейната чувствителност към вируси я правят идеален модел за изследване на вирусната репликация и цитопатогенните ефекти. Клетъчната линия LLC-MK2 е известна със способността си да се култивира в химически определени среди без серум, което позволява контролирани експериментални условия. Изследванията показват, че тези клетки могат да бъдат адаптирани към безсерумни условия, без да се нарушава растежът им, въпреки че първоначалните култури са поддържани в среди, съдържащи значителни количества конски серум. Адаптирането към химически определени среди е особено полезно за вирусологични изследвания, тъй като свежда до минимум променливостта, внасяна от серума, и подпомага дългосрочното поддържане на клетъчни линии. Освен това е доказано, че линията LLC-MK2 поддържа чувствителност към вируси, сравнима с тази на първичните маймунски бъбречни клетки, което я прави надежден инструмент за титриране на вируси и изследвания за производство на ваксини. В допълнение към ролята си във вирусологията, LLC-MK2 е изследвана и за туморогенния си потенциал. Въпреки че проявява определени трансформирани характеристики, като например способността да расте в мек агар, той не образува тумори в модели in vivo, което предполага ограничен туморогенен риск. Тази характеристика допълнително подчертава нейната полезност като моделна клетъчна линия за in vitro изследвания, като същевременно потвърждава непригодността ѝ за терапевтични или in vivo приложения.
Organism	Макак резус
Tissue	Бъбреци
Synonyms	Llc-Mk2, LLC-MK-2, LLC-MK2 Original, LLCMK2, LLcMK2, Лаборатории Лили Култура - маймунски бъбрек 2

Характеристики

Age	Възрастни
Morphology	Епителиален
Growth properties	Придържащи се

Регулаторни данни

Клетки LLC-MK2 (оригинални) | 305149

Citation	LLC-MK2 (каталожен номер на Cytion 305149)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9544
CellosaurusAccession	CVCL_3009

Биомолекулярни данни

Protein expression	Активатор на плазминогена

Работа с

Culture Medium	Среда 199, w: 2,7 mM стабилен глутамин, w: 2,2 g/L NaHCO3, w: EBSS (номер на статията в Cytion 820101a)
Supplements	Допълнете средата с 1% конски серум
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Отстранете старата среда от адхезивните клетки и ги промийте с PBS, която не съдържа калций и магнезий. За колби T25 използвайте 3-5 ml PBS, а за колби T75 - 5-10 ml. След това покрийте клетките изцяло с Accutase, като използвате 1-2 ml за колби T25 и 2,5 ml за колби T75. Оставете клетките да се инкубират на стайна температура за 8-10 минути, за да се отделят. След инкубацията внимателно разбъркайте клетките с 10 ml среда, за да ги ресуспендирате, след което центрофугирайте при 300xg за 3 минути. Изхвърлете супернатантата, ресуспендирайте клетките в прясна среда и ги прехвърлете в нови колби, които вече съдържат прясна среда.
Seeding density	4 x 10^{4} клетки/cm^{2}
Fluid renewal	2 до 3 пъти седмично
Freeze medium	Като среда за криоконсервация използваме пълна среда за растеж (включително FBS) + 10% DMSO за адекватна жизнеспособност след размразяване или CM-1 (каталожен номер 800100 на Cytion), която включва оптимизирани осмопротектори и метаболитни стабилизатори за подобряване на възстановяването и намаляване на криоиндуцирания стрес.

Клетки LLC-MK2 (оригинални) | 305149

Thawing and Culturing Cells

1. Уверете се, че флаконът остава дълбоко замразен при доставката, тъй като клетките се транспортират със сух лед, за да се поддържат оптимални температури по време на транспортирането.

2. При получаване съхранявайте незабавно криовиолата при температури под -150 °C, за да осигурите запазване на клетъчната цялост, или преминете към стъпка 3, ако е необходимо незабавно култивиране.

3. За незабавно култивиране бързо размразете флакона, като го потопите във водна баня с чиста вода и антимикробен агент с температура 37°C, като разбърквате внимателно в продължение на 40-60 секунди, докато остане малка ледена бучка.

4. Извършвайте всички следващи стъпки при стерилни условия в аспиратор, като преди отваряне дезинфекцирате криовиолата със 70% етанол.

5. Внимателно отворете дезинфекцирания флакон и прехвърлете клетъчната суспензия в 15 ml центрофужна епруветка, съдържаща 8 ml хранителна среда със стайна температура, като разбъркате внимателно.

6. Центрофугирайте сместа при 300 x g в продължение на 3 минути, за да отделите клетките, и внимателно изхвърлете супернатантата, съдържаща остатъчна замразяваща среда.

7. Внимателно ресуспендирайте клетъчната пелета в 10 ml прясна хранителна среда. За адхезивни клетки разделете суспензията между две колби T25; за суспензионни култури прехвърлете цялата среда в една колба T25, за да стимулирате ефективното взаимодействие и растеж на клетките.

8. Придържайте се към установените протоколи за субкултивиране за непрекъснат растеж и поддържане на клетъчната линия, като гарантирате надеждни експериментални резултати.

Incubation Atmosphere

37°C, 5%$_{CO2}$, овлажнена атмосфера.

Flask Coating

Няма

Freezing Procedure

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително -78 °C по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

Клетки LLC-MK2 (оригинални) | 305149

Shipping Conditions	Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед в утвърдени, изолирани опаковки с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително -78 °C по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.
Storage Conditions	За дълготрайно съхранение поставете флаконите в течен азот в парна фаза при температура около -150 до -196 °C. Съхранението при -80 °C е приемливо само като кратък междинен етап преди прехвърлянето в течен азот.

Контрол на качеството и молекулярен анализ

Sterility	Замърсяването с микоплазма се изключва както чрез PCR-базирани анализи, така и чрез луминесцентни методи за откриване на микоплазма. За да се гарантира, че няма бактериално, гъбично или дрождево замърсяване, клетъчните култури се подлагат на ежедневни визуални проверки.