Product sheet

Buňky LLC-MK2 (původní) | 305149

Obecné informace

Description	LLC-MK2 je kontinuální epiteliální buněčná linie vytvořená z ledvinové tkáně dospělých opic druhu rhesus (*Macaca mulatta*). Tato buněčná linie byla původně izolována v 50. letech 20. století trypsinizací sdružené ledvinové tkáně šesti opic rhesus. Buňky LLC-MK2 vykazují adherentní růstové vlastnosti a byly hojně využívány ve virologii díky své vysoké citlivosti k různým virům, včetně viru bovinního virového průjmu 1, lidského polioviru 1 a lidského coxsackieviru B4. Původ buněčné linie a její citlivost k virům z ní činí ideální model pro studium virové replikace a cytopatogenních účinků. Buněčná linie LLC-MK2 je známá svou schopností kultivace v chemicky definovaných médiích bez séra, což umožňuje kontrolované experimentální podmínky. Výzkum prokázal, že tyto buňky lze přizpůsobit podmínkám bez použití séra, aniž by byl ohrožen jejich růst, ačkoli počáteční kultury byly udržovány v médiích obsahujících značné množství koňského séra. Přizpůsobení chemicky definovaným médiím je zvláště výhodné pro virologické studie, protože minimalizuje variabilitu způsobenou sérem a podporuje dlouhodobé udržování buněčných linií. Kromě toho bylo prokázáno, že linie LLC-MK2 si zachovává citlivost na virus srovnatelnou s primárními buňkami opičích ledvin, což z ní činí spolehlivý nástroj pro titrační studie virů a výrobu vakcín. Kromě své úlohy ve virologii byla linie LLC-MK2 zkoumána také z hlediska svého nádorového potenciálu. Ačkoli vykazuje určité transformované vlastnosti, jako je schopnost růstu v měkkém agaru, netvoří nádory v modelech in vivo, což naznačuje omezené tumorigenní riziko. Tato vlastnost dále podtrhuje její užitečnost jako modelové buněčné linie pro studie in vitro a zároveň potvrzuje její nevhodnost pro terapeutické nebo in vivo aplikace.
Organism	Makak rhesus
Tissue	Ledviny
Synonyms	Llc-Mk2, LLC-MK-2, LLC-MK2 Original, LLCMK2, LLcMK2, Lilly Laboratories Culture-Monkey Kidney 2

Charakteristika

Age	Dospělí
Morphology	Epitelové
Growth properties	Adherentní

Regulační údaje

Citation	LLC-MK2 (katalogové číslo Cytion 305149)
Biosafety level	1

Buňky LLC-MK2 (původní) | 305149

NCBI_TaxID	9544
CellosaurusAccession	CVCL_3009

Biomolekulární data

Protein expression	Aktivátor plazminogenu

Zpracování

Culture Medium	Médium 199, w: 2,7 mM stabilního glutaminu, w: 2,2 g/l NaHCO3, w: EBSS (číslo článku Cytion 820101a)
Supplements	Doplňte médium 1% koňským sérem
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Odstraňte staré médium z adherovaných buněk a promyjte je PBS bez vápníku a hořčíku. Pro baňky T25 použijte 3-5 ml PBS a pro baňky T75 5-10 ml. Poté buňky zcela zakryjte přípravkem Accutase, přičemž použijte 1-2 ml pro baňky T25 a 2,5 ml pro baňky T75. Nechte buňky inkubovat při pokojové teplotě po dobu 8-10 minut, aby se oddělily. Po inkubaci jemně promíchejte buňky s 10 ml média, aby byly znovu suspendovány, a poté je odstřeďte při 300xg po dobu 3 minut. Supernatant vyhoďte, buňky znovu rozpusťte v čerstvém médiu a přeneste je do nových baněk, které již obsahují čerstvé médium.
Split ratio	1: 3 až 1: 4
Seeding density	4 x 10^4 buněk/cm^2
Fluid renewal	2 až 3krát týdně
Freeze medium	Jako kryokonzervační médium používáme kompletní růstové médium (včetně FBS) + 10 % DMSO pro zajištění dostatečné životaschopnosti po rozmrazení nebo CM-1 (katalogové číslo 800100 společnosti Cytion), které obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory pro zlepšení regenerace a snížení stresu způsobeného kryo.

Buňky LLC-MK2 (původní) | 305149

Thawing and Culturing Cells	1. Ověřte si, že lahvička zůstane při dodání hluboce zmražená, protože buňky se přepravují na suchém ledu, aby se během přepravy udržely optimální teploty. 2. Po obdržení kryovialku buď okamžitě uložte při teplotě nižší než -150 °C, abyste zajistili zachování buněčné integrity, nebo přejděte ke kroku 3, pokud je nutná okamžitá kultivace. 3. Pro okamžitou kultivaci rychle rozmrazte lahvičku ponořením do vodní lázně o teplotě 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálním prostředkem a jemně ji míchejte po dobu 40-60 sekund, dokud nezůstane malý ledový chuchvalec. 4. Všechny další kroky provádějte za sterilních podmínek v průtokové digestoři a před otevřením kryovialku dezinfikujte 70% ethanolem. 5. Opatrně otevřete dezinfikovanou lahvičku a přeneste buněčnou suspenzi do 15 ml centrifugační zkumavky obsahující 8 ml kultivačního média o pokojové teplotě a jemně promíchejte. 6. Směs odstřeďujte při 300 x g po dobu 3 minut, aby se buňky oddělily, a supernatant obsahující zbytky mrazicího média opatrně zlikvidujte. 7. Pelety buněk jemně resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačního média. U adherentních buněk rozdělte suspenzi mezi dvě kultivační baňky T25; u suspenzních kultur přeneste veškeré médium do jedné baňky T25, abyste podpořili účinnou interakci a růst buněk. 8. Dodržujte zavedené subkultivační protokoly pro kontinuální růst a udržování buněčné linie, čímž zajistíte spolehlivé výsledky experimentů.
Incubation Atmosphere	37 °C, 5 % $_{CO2}$, zvlhčená atmosféra.
Flask Coating	Žádný
Freezing Procedure	Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.
Shipping Conditions	Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

Buňky LLC-MK2 (původní) | 305149

Storage Conditions	Pro dlouhodobé uchování umístěte lahvičky do kapalného dusíku v plynné fázi při teplotě přibližně -150 až -196 °C. Skladování při -80 °C je přijatelné pouze jako krátký přechodný krok před přemístěním do kapalného dusíku.

Kontrola kvality a molekulární analýza

Sterility	Kontaminace mykoplazmaty je vyloučena jak pomocí testů založených na PCR, tak pomocí luminiscenčních metod detekce mykoplazmy. Aby se zajistilo, že nedojde ke kontaminaci bakteriemi, plísněmi nebo kvasinkami, jsou buněčné kultury denně podrobovány vizuálním kontrolám.