Product sheet

Κύτταρα LLC-MK2 (Original) | 305149

Γενικές πληροφορίες

Description	Η LLC-MK2 είναι μια συνεχής σειρά επιθηλιακών κυττάρων που δημιουργήθηκε από τον νεφρικό ιστό ενήλικων πιθήκων ρέζους (*Macaca mulatta*). Η εν λόγω κυτταρική σειρά απομονώθηκε αρχικά τη δεκαετία του 1950 μέσω της τρυψινοποίησης συγκεντρωτικού νεφρικού ιστού από έξι πιθήκους ρέζους. Τα κύτταρα LLC-MK2 εμφανίζουν χαρακτηριστικά προσκολλημένης ανάπτυξης και έχουν χρησιμοποιηθεί εκτενώς στην ιολογία λόγω της υψηλής ευαισθησίας τους σε διάφορους ιούς, συμπεριλαμβανομένου του ιού της διάρροιας των βοοειδών 1, του ιού της ανθρώπινης πολιομυελίτιδας 1 και του ιού του ανθρώπινου coxsackievirus B4. Η προέλευση της κυτταρικής σειράς και η ευαισθησία στους ιούς την καθιστούν ιδανικό μοντέλο για τη μελέτη του πολλαπλασιασμού των ιών και των κυτταροπαθογόνων επιδράσεων. Η κυτταρική σειρά LLC-MK2 είναι γνωστή για την ικανότητά της να καλλιεργείται σε χημικά καθορισμένα μέσα χωρίς ορό, γεγονός που επιτρέπει ελεγχόμενες πειραματικές συνθήκες. Η έρευνα έδειξε ότι τα κύτταρα αυτά μπορούν να προσαρμοστούν σε συνθήκες χωρίς ορό χωρίς να διακυβεύεται η ανάπτυξη, αν και οι αρχικές καλλιέργειες διατηρήθηκαν σε μέσα που περιείχαν σημαντικές ποσότητες ορού αλόγου. Η προσαρμογή σε χημικά καθορισμένα μέσα είναι ιδιαίτερα επωφελής για ιολογικές μελέτες, καθώς ελαχιστοποιεί τη μεταβλητότητα που εισάγει ο ορός και υποστηρίζει τη μακροχρόνια συντήρηση των κυτταρικών σειρών. Επιπλέον, έχει αποδειχθεί ότι η σειρά LLC-MK2 διατηρεί ευαισθησία στον ιό συγκρίσιμη με τα πρωτογενή κύτταρα νεφρού πιθήκου, καθιστώντας την αξιόπιστο εργαλείο για μελέτες τιτλοδότησης του ιού και παραγωγής εμβολίων. Εκτός από το ρόλο της στην ιολογία, η LLC-MK2 έχει επίσης διερευνηθεί για το καρκινικό δυναμικό της. Παρόλο που παρουσιάζει ορισμένα μετασχηματισμένα χαρακτηριστικά, όπως η ικανότητα ανάπτυξης σε μαλακό άγαρ, δεν σχηματίζει όγκους σε in vivo μοντέλα, γεγονός που υποδηλώνει περιορισμένο καρκινικό κίνδυνο. Το χαρακτηριστικό αυτό υπογραμμίζει περαιτέρω τη χρησιμότητά του ως πρότυπης κυτταρικής σειράς για in vitro μελέτες, ενώ επιβεβαιώνει την ακαταλληλότητά του για θεραπευτικές ή in vivo εφαρμογές.
Organism	Μακάκος Ρεσούς
Tissue	Νεφρός
Synonyms	Llc-Mk2, LLC-MK-2, LLC-MK2 Original, LLCMK2, LLcMK2, Lilly Laboratories Πολιτισμός-Μαϊμού νεφρού 2

Χαρακτηριστικά

Age	Ενηλίκων
Morphology	Επιθηλιακό
Growth properties	Προσκολλημένο

Ρυθμιστικά δεδομένα

Product sheet

Κύτταρα LLC-MK2 (Original) | 305149

Citation	LLC-MK2 (αριθμός καταλόγου Cytion 305149)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9544
CellosaurusAccession	CVCL_3009

Βιομοριακά δεδομένα

Protein expression	Ενεργοποιητής πλασμινογόνου

Χειρισμός

Culture Medium	Μέσο 199, w: 2,7 mM σταθερή γλουταμίνη, w: 2,2 g/L NaHCO3, w: EBSS (αριθμός άρθρου Cytion 820101a)
Supplements	Συμπληρώστε το μέσο με 1% ορό αλόγου
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Αφαιρέστε το παλιό μέσο από τα προσκολλημένα κύτταρα και πλύντε τα με PBS που δεν περιέχει ασβέστιο και μαγνήσιο. Για φιάλες T25, χρησιμοποιήστε 3-5 ml PBS και για φιάλες T75, χρησιμοποιήστε 5-10 ml. Στη συνέχεια, καλύψτε πλήρως τα κύτταρα με Accutase, χρησιμοποιώντας 1-2 ml για φιάλες T25 και 2,5 ml για φιάλες T75. Αφήστε τα κύτταρα να επωαστούν σε θερμοκρασία δωματίου για 8-10 λεπτά για να αποκολληθούν. Μετά την επώαση, αναμείξτε απαλά τα κύτταρα με 10 ml μέσου για να ανασυσταθούν και, στη συνέχεια, φυγοκεντρίστε στα 300xg για 3 λεπτά. Απορρίψτε το υπερκείμενο υγρό, ανασυστάστε τα κύτταρα σε φρέσκο μέσο και μεταφέρετέ τα σε νέες φιάλες που περιέχουν ήδη φρέσκο μέσο.
Seeding density	4 x 10^4 κύτταρα/cm^2
Fluid renewal	2 έως 3 φορές την εβδομάδα
Freeze medium	Ως μέσο κρυοσυντήρησης, χρησιμοποιούμε πλήρες μέσο ανάπτυξης (συμπεριλαμβανομένου του FBS) + 10% DMSO για επαρκή βιωσιμότητα μετά την απόψυξη, ή CM-1 (αριθμός καταλόγου Cytion 800100), το οποίο περιλαμβάνει βελτιστοποιημένα ωσμοπροστατευτικά και μεταβολικούς σταθεροποιητές για την ενίσχυση της ανάκαμψης και τη μείωση του στρες που προκαλείται από την κρυοσυντήρηση.

Κύτταρα LLC-MK2 (Original) | 305149

Thawing and Culturing Cells

1. Επιβεβαιώστε ότι το φιαλίδιο παραμένει βαθιά παγωμένο κατά την παράδοση, καθώς τα κύτταρα αποστέλλονται σε ξηρό πάγο για να διατηρούνται οι βέλτιστες θερμοκρασίες κατά τη μεταφορά.

2. Κατά την παραλαβή, είτε αποθηκεύστε το κρυοφιαλίδιο αμέσως σε θερμοκρασίες κάτω των -150°C για να διασφαλίσετε τη διατήρηση της κυτταρικής ακεραιότητας, είτε προχωρήστε στο βήμα 3 εάν απαιτείται άμεση καλλιέργεια.

3. Για άμεση καλλιέργεια, αποψύξτε γρήγορα το φιαλίδιο βυθίζοντάς το σε υδατόλουτρο 37°C με καθαρό νερό και αντιμικροβιακό παράγοντα, αναδεύοντας απαλά για 40-60 δευτερόλεπτα μέχρι να παραμείνει ένα μικρό σβόλο πάγου.

4. Εκτελέστε όλα τα επόμενα βήματα υπό αποστειρωμένες συνθήκες σε απορροφητήρα ροής, απολυμαίνοντας το κρυοφιαλίδιο με 70% αιθανόλη πριν από το άνοιγμα.

5. Ανοίξτε προσεκτικά το απολυμασμένο φιαλίδιο και μεταφέρετε το εναιώρημα των κυττάρων σε ένα σωληνάριο φυγοκέντρησης των 15 ml που περιέχει 8 ml θρεπτικού μέσου καλλιέργειας σε θερμοκρασία δωματίου, αναμειγνύοντας απαλά.

6. Φυγοκεντρίστε το μείγμα στα 300 x g για 3 λεπτά για να διαχωριστούν τα κύτταρα και απορρίψτε προσεκτικά το υπερκείμενο που περιέχει το υπόλοιπο μέσο κατάψυξης.

7. Επανασυσσωματώστε απαλά το κυτταρικό σφαιρίδιο σε 10 ml φρέσκου μέσου καλλιέργειας. Για προσκολλημένα κύτταρα, μοιράστε το εναιώρημα σε δύο φιάλες καλλιέργειας T25- για καλλιέργειες εναιωρήματος, μεταφέρετε όλο το μέσο σε μία φιάλη T25 για να προωθήσετε την αποτελεσματική αλληλεπίδραση και ανάπτυξη των κυττάρων.

8. Τηρείτε τα καθιερωμένα πρωτόκολλα υποκαλλιέργειας για τη συνεχή ανάπτυξη και διατήρηση της κυτταρικής σειράς, εξασφαλίζοντας αξιόπιστα πειραματικά αποτελέσματα.

Incubation Atmosphere

37°C, 5%$_{CO2}$, υγροποιημένη ατμόσφαιρα.

Flask Coating

Κανένα

Freezing Procedure

Οι κρυοσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των -78 °C καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.

Κύτταρα LLC-MK2 (Original) | 305149

Shipping Conditions	Οι κρυοσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των -78 °C καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.
Storage Conditions	Για μακροχρόνια συντήρηση, τοποθετήστε τα φιαλίδια σε υγρό άζωτο σε φάση ατμών σε θερμοκρασία περίπου -150 έως -196 °C. Η αποθήκευση στους -80 °C είναι αποδεκτή μόνο ως σύντομο ενδιάμεσο βήμα πριν από τη μεταφορά σε υγρό άζωτο.

Έλεγχος ποιότητας και μοριακή ανάλυση

Sterility	Η μόλυνση από μυκόπλασμα αποκλείεται με τη χρήση τόσο των δοκιμασιών που βασίζονται στην PCR όσο και των μεθόδων ανίχνευσης μυκοπλάσματος με βάση τη φωταύγεια. Για να διασφαλιστεί ότι δεν υπάρχει μόλυνση από βακτήρια, μύκητες ή ζύμες, οι κυτταροκαλλιέργειες υποβάλλονται σε καθημερινές οπτικές επιθεωρήσεις.