Product sheet

LLC-MK2 (originaal) rakud | 305149

Üldine teave

Description	LLC-MK2 on täiskasvanud reesusahvide (*Macaca mulatta*) neerukoes loodud pidev epiteelirakuliin. See rakuliin isoleeriti algselt 1950. aastatel kuue reesusahvi ühendatud neerukoe trüpsiinistamise teel. LLC-MK2 rakkudel on adherentsed kasvuomadused ja neid on laialdaselt kasutatud viroloogias nende suure tundlikkuse tõttu erinevate viiruste suhtes, sealhulgas veiste viirusliku kõhulahtisuse viiruse 1, inimese polioviiruse 1 ja inimese koksackieviiruse B4 suhtes. Rakuliini päritolu ja vastuvõtlikkus viirustele muudavad selle ideaalseks mudeliks viiruste replikatsiooni ja tsütopatogeensete mõjude uurimiseks. LLC-MK2 rakuliin on tuntud selle poolest, et seda on võimalik kasvatada keemiliselt määratletud, seerumivabas keskkonnas, mis võimaldab kontrollitud katsetingimusi. Uuringud on näidanud, et neid rakke saab kohandada seerumivabadele tingimustele ilma kasvu kahjustamata, kuigi esialgseid kultuure hoiti märkimisväärses koguses hobuse seerumit sisaldavas keskkonnas. Kohandamine keemiliselt määratletud keskkondadele on eriti kasulik viroloogiliste uuringute jaoks, kuna see vähendab seerumist tulenevat varieeruvust ja toetab rakuliini pikaajalist säilitamist. Lisaks on näidatud, et LLC-MK2 liin säilitab viiruse tundlikkuse, mis on võrreldav primaarsete ahvi neerurakkudega, mis muudab selle usaldusväärseks vahendiks viiruse tiitrimise ja vaktsiini tootmise uuringutes. Lisaks viroloogias mängitavale rollile on LLC-MK2 uuritud ka tema kasvajate tekkepotentsiaali. Kuigi sellel on teatavad muundatud omadused, näiteks võime kasvada pehmel agaril, ei moodusta ta in vivo mudelites kasvajaid, mis viitab piiratud kasvajariskile. See omadus rõhutab veelgi selle kasulikkust mudelrakuliinina in vitro uuringutes, kinnitades samas, et see ei sobi terapeutilisteks või in vivo rakendusteks.
Organism	Reesusmakakas
Tissue	Neerud
Synonyms	Llc-Mk2, LLC-MK-2, LLC-MK2 Original, LLCMK2, LLcMK2, Lilly Laboratories Culture-Monkey Kidney 2, Lilly Laboratories Culture-Monkey Kidney 2

Omadused

Age	Täiskasvanud
Morphology	Epiteel
Growth properties	Kinnipeetav

Regulatiivsed andmed

Citation	LLC-MK2 (Cytioni kataloginumber 305149)

Product sheet

LLC-MK2 (originaal) rakud | 305149

Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9544
CellosaurusAccession	CVCL_3009

Biomolekulaarsed andmed

Protein expression	Plasminogeeni aktivaator

Töötlemine

Culture Medium	Keskkond 199, w: 2,7 mM stabiilne glutamiin, w: 2,2 g/L NaHCO3, w: EBSS (Cytioni artikli number 820101a)
Supplements	Täiendada keskkonda 1% hobuse seerumiga
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Eemaldage kleepunud rakkudelt vana söötme ja peske neid PBS-ga, milles puudub kaltsium ja magneesium. T25 kolbide puhul kasutage 3-5 ml PBS-i ja T75 kolbide puhul 5-10 ml. Seejärel katke rakud täielikult Accutase'iga, kasutades 1-2 ml T25 kolbide puhul ja 2,5 ml T75 kolbide puhul. Laske rakkudel inkubeerida 8-10 minutit toatemperatuuril, et need eralduksid. Pärast inkubeerimist segage rakud ettevaatlikult 10 ml söötmega, et neid resuspenseerida, seejärel tsentrifuugige 3 minutit 300xg juures. Visake supernatant ära, suspenseerige rakud uuesti värskes keskkonnas ja viige need uutesse kolvidesse, mis sisaldavad juba värsket keskkonda.
Seeding density	4 x 10^4 rakku/cm^2
Fluid renewal	2 kuni 3 korda nädalas
Freeze medium	Krüosäilitusvedelikusena kasutame täielikku kasvukeskkonda (sh FBS) + 10% DMSO, et tagada piisav elujõulisus pärast sulatamist, või CM-1 (Cytioni kataloginumber 800100), mis sisaldab optimeeritud osmoprotektante ja metaboolseid stabilisaatoreid, et parandada taastumist ja vähendada krüostressi.

LLC-MK2 (originaal) rakud | 305149

Thawing and Culturing Cells	1. Veenduge, et viaal jääb tarnimisel sügavkülmutatud, sest rakud transporditakse kuiva jääga, et säilitada optimaalne temperatuur transpordi ajal. 2. Pärast kättesaamist säilitage krüoviaal kas kohe temperatuuril alla -150 °C, et tagada rakkude terviklikkuse säilimine, või jätkake sammuga 3, kui on vaja koheselt kultiveerida. 3. Kohese kultiveerimise korral sulatage viaali kiiresti, kastes selle 37 °C veevanni puhta vee ja antimikroobse ainega, segades seda õrnalt 40-60 sekundit, kuni alles jääb väike jääklomp. 4. Tehke kõik järgmised toimingud steriilsetes tingimustes vooluhoodis, desinfitseerides krüoviaal enne avamist 70% etanooliga. 5. Avage desinfitseeritud viaali ettevaatlikult ja viige rakususpensioon ettevaatlikult segades 15 ml tsentrifuugitorusse, mis sisaldab 8 ml toatemperatuuril olevat kasvukeskkonda. 6. Rakkude eraldamiseks tsentrifuugige segu 300 x g juures 3 minutit ja visake ülejäänud külmutusvedelikku sisaldav supernatant ettevaatlikult ära. 7. Resuspendeerige rakupellet ettevaatlikult 10 ml värskes kasvukeskkonnas. Adhereeruvate rakkude puhul jagage suspensioon kahe T25 kultuurkolvi vahel; suspensioonikultuuride puhul kandke kogu söötmekeskkond ühte T25 kolbi, et soodustada rakkude tõhusat koostoimet ja kasvu. 8. Järgige kehtestatud subkultuuriprotokolle rakuliini jätkuvaks kasvuks ja säilitamiseks, tagades usaldusväärsed katsetulemused.
Incubation Atmosphere	37°C, 5% $_{CO2}$, niisutatud atmosfäär.
Flask Coating	Puudub
Freezing Procedure	Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu -78 °C. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige viaalid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.
Shipping Conditions	Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu -78 °C. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige viaalid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

LLC-MK2 (originaal) rakud | 305149

Storage Conditions	Pikaajaliseks säilitamiseks asetage viaalid aurufaasis vedela lämmastikuga umbes -150 kuni -196 °C juures. Säilitamine temperatuuril -80 °C on vastuvõetav ainult lühikese vaheetapina enne vedela lämmastikuga üleviimist.

Kvaliteedikontroll ja molekulaaranalüüs

Sterility	Mükoplasmakontaminatsioon on välistatud nii PCR-põhiste analüüside kui ka luminestsentsil põhinevate mükoplasma tuvastamise meetodite abil. Bakteriaalse, seene- või pärmsaaste puudumise tagamiseks kontrollitakse rakukultuure iga päev visuaalselt.