

LLC-MK2 (originaal) rakud | 305149

Üldine teave

Description

LLC-MK2 on täiskasvanud reesusahvide (*Macaca mulatta*) neerukoos 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 virooloogiliste 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 katalooginumber 305149)

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** 4×10^4 rakku/cm²**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 katalooginumber 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 vial jääb tarnimisel sügavkülmutatud, sest rakud transporditakse kuiva jääga, et säilitada optimaalne temperatuur transpordi ajal.
2. Pärast kättesaamist säilitage krüoviaal kas kohe temperatuuril alla $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, et tagada rakkude terviklikkuse säilimine, või jätkake sammuga 3, kui on vaja koheselt kultiveerida.
3. Kohese kultiveerimise korral sulatage viali kiiresti, kastes selle $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ 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 viali ettevaatlikult ja viige raku suspensioon ettevaatlikult segades 15 ml tsentrifuugitorusse, mis sisaldab 8 ml toatemperatuuril olevat kasvukeskkonda.
6. Rakkude eraldamiseks tsentrifuugige segu $300 \times g$ juures 3 minutit ja visake ülejäänud külmutusvedelikku sisaldav supernatant ettevaatlikult ära.
7. Resuspendeerige rakupellet ettevaatlikult 10 ml värskes kasvukeskkonnas. Adhereerivate rakkude puhul jagage suspensioon kahe T25 kultuurkolvi vahel; suspensioonikultuuride puhul kandke kogu söötme keskkond ühte T25 kolbi, et soodustada rakkude tõhusat koostoimet ja kasvu.
8. Järgige kehtestatud subkultuuriprotokolle rakuliini jätkuvaks kasvuks ja säilitamiseks, tagades usaldusväärsed katsetulemused.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , 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 $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

Shipping Conditions

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid 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 / Geneetiline profiil / HLA

Sterility

Mükoplasmakontaminatsioon on välistatud nii PCR-põhiste analüüside kui ka luminesentsil põhinevate mükoplasma tuvastamise meetodite abil.

Bakteriaalse, seene- või pärmsaaste puudumise tagamiseks kontrollitakse rakukultuure iga päev visuaalselt.