

LLC-MK2 (alkuperäiset) solut | 305149

Yleisiä tietoja

Description

LLC-MK2 on jatkuva epiteelisolulinja, joka on luotu aikuisten rhesusapinoiden (*Macaca mulatta*) munuaiskudoksesta. Tämä solulinja eristettiin alun perin 1950-luvulla trypsiinisoimalla kuuden rhesusapinan yhdistettyä munuaiskudosta. LLC-MK2-soluilla on adheesiokasvuominaisuudet, ja niitä on käytetty laajalti virologiassa, koska ne ovat erittäin herkkiä erilaisille viruksille, kuten naudan virusripulivirukselle 1, ihmisen poliovirukselle 1 ja ihmisen coxsackievirukselle B4. Solulinjan alkuperä ja virusherkyys tekevät siitä ihanteellisen mallin virusten replikaation ja sytopatogeenisten vaikutusten tutkimiseen.

LLC-MK2-solulinja on tunnettu siitä, että sitä voidaan viljellä kemiallisesti määritellyissä, seerumittomissa väliaineissa, mikä mahdollistaa kontrolloidut koeolosuhteet. Tutkimukset ovat osoittaneet, että nämä solut voidaan mukauttaa seerumittomiin olosuhteisiin ilman, että kasvu vaarantuu, vaikka alkuperäisiä viljelmiä pidettiinkin yllä medioissa, jotka sisälsivät huomattavia määriä hevosseerumia. Kemiallisesti määriteltyihin väliaineisiin sopeutuminen on erityisen edullista virologisissa tutkimuksissa, koska se minimoi seerumin aiheuttaman vaihtelun ja tukee solulinjojen pitkäaikaista ylläpitoa. Lisäksi LLC-MK2-linjan on osoitettu säilyttävän samanlaisen virusherkyksen kuin primaaristen apinan munuaissolujen, mikä tekee siitä luotettavan välineen virustitraus- ja rokotetuotantotutkimuksiin.

Sen lisäksi, että LLC-MK2:lla on merkitystä virologiassa, sitä on tutkittu myös sen kasvainvaikutuspotentiaalin vuoksi. Vaikka sillä on tiettyjä muuntuneita ominaisuuksia, kuten kyky kasvaa pehmeässä agarissa, se ei muodosta kasvaimia in vivo -malleissa, mikä viittaa rajalliseen kasvainriskiin. Tämä ominaisuus korostaa entisestään sen käyttökelpoisuutta mallisolulinjana in vitro -tutkimuksissa, mutta vahvistaa samalla sen soveltumattomuuden terapeuttisiin tai in vivo -sovelluksiin.

Organism

Rhesusmakakki

Tissue

Munuaiset

Synonyms

Llc-Mk2, LLC-MK-2, LLC-MK2 Original, LLCMK2, LLcMK2, Lilly Laboratories Kulttuuri-Apinan munuainen 2

Ominaisuudet

Age

Aikuiset

Morphology

Epiteeli

Growth properties

Tarttuva

Säätelytiedot

Citation

LLC-MK2 (Cytionin luettelonumero 305149)

LLC-MK2 (alkuperäiset) solut | 305149

Biosafety level 1**NCBI_TaxID** 9544**CellosaurusAccession** CVCL_3009**Biomolekyylitiedot****Protein expression** Plasminogeenin aktivaattori**Käsittely****Culture Medium** Medium 199, w: 2,7 mM stabiilia glutamiinia, w: 2,2 g/L NaHCO₃, w: EBSS (Cytionin artikkelinumero 820101a)**Supplements** Täydennetään elatusainetta 1 % hevosseerumilla**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Poista vanha väliaine tarttuneista soluista ja pese ne PBS:llä, josta puuttuu kalsiumia ja magnesiumia. Käytä T25-pulloissa 3-5 ml PBS:ää ja T75-pulloissa 5-10 ml. Peitä sitten solut kokonaan Accutase-valmisteella, käyttäen 1-2 ml T25-pulloissa ja 2,5 ml T75-pulloissa. Anna solujen inkuboitua huoneenlämmössä 8-10 minuuttia solujen irtoamiseksi. Inkuboinnin jälkeen solut sekoitetaan varovasti 10 ml:n väliaineella niiden resuspendoimiseksi ja sentrifugoidaan sitten 300xg:n nopeudella 3 minuutin ajan. Hävitä supernatantti, suspendoi solut uudelleen tuoreessa väliaineessa ja siirrä ne uusiin pulloihin, jotka sisältävät jo tuoretta väliaineita.**Seeding density** 4×10^4 solua/cm²**Fluid renewal** 2-3 kertaa viikossa**Freeze medium** Kryosäilytysmediana käytämme täydellistä kasvualustaa (mukaan lukien FBS) + 10 % DMSO:ta riittävän sulatuksen jälkeisen elinkelpoisuuden varmistamiseksi tai CM-1:tä (Cytionin luettelonumero 800100), joka sisältää optimoituja osmoprotectantteja ja metabolisia stabilisaattoreita, jotka parantavat elpymistä ja vähentävät kryosäilytyksen aiheuttamaa stressiä.

LLC-MK2 (alkuperäiset) solut | 305149

Thawing and Culturing Cells

1. Varmista, että injektiopullo pysyy syväjäädetyttynä toimitettaessa, sillä solut kuljetetaan kuivajäädessä, jotta optimaalinen lämpötila säilyy kuljetuksen aikana.
2. Vastaanottaessa kryopullo joko säilytetään välittömästi alle $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$:n lämpötilassa solujen eheyden säilyttämiseksi tai edetään vaiheeseen 3, jos tarvitaan välitöntä viljelyä.
3. Välitöntä viljelyä varten sulata injektiopullo nopeasti upottamalla se $37\text{ }^{\circ}\text{C}$:n vesihauteeseen, jossa on puhdasta vettä ja antimikrobista ainetta, ja sekoittamalla sitä varovasti 40-60 sekunnin ajan, kunnes jäädästä on jäljellä pieni jäämöhkäle.
4. Suorita kaikki seuraavat vaiheet steriileissä olosuhteissa virtaushupussa ja desinfioi kryopullo 70-prosenttisellä etanolilla ennen avaamista.
5. Avaa desinfioitu injektiopullo varovasti ja siirrä solususpensio 15 ml:n sentrifugiputkeen, joka sisältää 8 ml huoneenlämpöistä elatusainetta, varovasti sekoittaen.
6. Sentrifugoi seosta $300 \times g$:n voimakkuudella 3 minuutin ajan solujen erottamiseksi ja hävitä varovasti supernatantti, joka sisältää jäännöspakastusmediumia.
7. Suspendoidaan solupelletti varovasti uudelleen 10 ml:aan tuoretta elatusainetta. Jos solut ovat tarttuvia, jaa suspensio kahden T25-kolvin kesken; jos kyseessä ovat suspensioviljelmät, siirrä kaikki väliaine yhteen T25-kolviin solujen tehokkaan vuorovaikutuksen ja kasvun edistämiseksi.
8. Noudata vakiintuneita aliviljelyprotokollia solulinjan jatkuvan kasvun ja ylläpidon varmistamiseksi ja luotettavien kokeellisten tulosten varmistamiseksi.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5 % CO_2 , kostutettu ilmakehä.

Flask Coating

Ei mitään

Freezing Procedure

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäädessä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

Shipping Conditions

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäädessä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

LLC-MK2 (alkuperäiset) solut | 305149

Storage Conditions

Pitkäaikaissäilytystä varten injektiopullot asetetaan höyryfaasissa olevaan nestemäiseen tyypeen noin -150 - -196 °C:een. Säilytys -80 °C:ssa on hyväksyttävää vain lyhyenä välivaiheena ennen siirtoa nestemäiseen tyypeen.

Laadunvalvonta / Geneettinen profiili / HLA

Sterility

Mykoplasmakontaminaatio suljetaan pois sekä PCR-pohjaisilla määrittelyillä että luminesenssiin perustuvilla mykoplasman osoitusmenetelmillä.

Bakteeri-, sieni- tai hiivakontaminaation välttämiseksi soluviljelmät tarkastetaan päivittäin silmämääräisesti.