Product sheet

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 polioviruksille 1 ja ihmisen coxsackievirukselle B4. Solulinjan alkuperä ja virusherkkyys tekevät siitä ihanteellisen mallin virusten replikaation ja sytopatogeenisten vaikutusten tutkimiseen. LLC-MK2-solulinja tunnetaan kyvystään 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 virusherkkyyden 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

Sääntelytiedot

Citation	LLC-MK2 (Cytionin tuotenumero 305149)

Product sheet

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 tuoreeseen väliaineeseen ja siirrä ne uusiin pulloihin, jotka sisältävät jo tuoretta väliaineita.
Seeding density	$4 \times 10^{4\ sol}ua/cm^2$
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 syväjäädytettynä toimitettaessa, sillä solut kuljetetaan kuivajäässä, jotta optimaalinen lämpötila säilyy kuljetuksen aikana.
2. Vastaanotettaessa kryopullo joko säilytetään välittömästi alle -150 °C:n lämpötilassa solujen eheyden säilyttämiseksi tai edetään vaiheeseen 3, jos tarvitaan välitöntä viljelyä.
3. Välitöntä viljelyä varten sulata injektiopullo nopeasti upottamalla se 37 °C:n vesihauteeseen, jossa on puhdasta vettä ja mikrobilääkettä, ja sekoittamalla sitä varovasti 40-60 sekunnin ajan, kunnes jäästä on jäljellä pieni jäämöhkäle.
4. Suorita kaikki seuraavat vaiheet steriileissä olosuhteissa virtaushupussa ja desinfioi kryopullo 70-prosenttisella 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 x 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 °C, 5 % $_{CO2}$, kostutettu ilmakehä.
Flask Coating	Ei mitään
Freezing Procedure	Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäässä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.
Shipping Conditions	Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäässä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °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 typpeen noin -150 - -196 °C:een. Säilytys -80 °C:ssa on hyväksyttävää vain lyhyenä välivaiheena ennen siirtoa nestemäiseen typpeen.

Laadunvalvonta ja molekyylianalyysi

Sterility	Mykoplasmakontaminaatio suljetaan pois sekä PCR-pohjaisilla määrityksillä että luminesenssiin perustuvilla mykoplasman osoitusmenetelmillä. Bakteeri-, sieni- tai hiivakontaminaation välttämiseksi soluviljelmät tarkastetaan päivittäin silmämääräisesti.