Product sheet

LLC-MK2 (eredeti) sejtek | 305149

Általános információk

Description	Az LLC-MK2 egy felnőtt rhesusmajmok (*Macaca mulatta*) veseszövetéből létrehozott folyamatos epitélsejtvonal. Ezt a sejtvonalat eredetileg az 1950-es években izolálták hat rhesusmajom összevont veseszövetének tripszinizálásával. Az LLC-MK2 sejtek adherens növekedési tulajdonságokkal rendelkeznek, és a virológiában széles körben használták őket a különböző vírusokkal, többek között a bovine viral diarrhea virus 1, a human poliovirus 1 és a human coxsackievirus B4 vírusokkal szembeni nagyfokú érzékenységük miatt. A sejtvonal eredete és vírusérzékenysége miatt ideális modell a vírusreplikáció és a citopatogén hatások tanulmányozására. Az LLC-MK2 sejtvonal ismert arról, hogy kémiailag meghatározott, szérummentes táptalajban tenyészthető, ami lehetővé teszi a kontrollált kísérleti körülmények alkalmazását. A kutatások bebizonyították, hogy ezek a sejtek a növekedés veszélyeztetése nélkül adaptálhatók szérummentes körülményekhez, bár a kezdeti tenyészetek jelentős mennyiségű lószérumot tartalmazó táptalajon voltak tartva. A kémiailag meghatározott táptalajokhoz való alkalmazkodás különösen előnyös a virológiai vizsgálatok számára, mivel minimalizálja a szérum által okozott változékonyságot, és támogatja a sejtvonalak hosszú távú fenntartását. Továbbá az LLC-MK2 vonalról kimutatták, hogy a primer majomvese sejtekhez hasonló vírusérzékenységet tart fenn, ami megbízható eszközzé teszi a vírus titrálási és vakcinagyártási vizsgálatokhoz. A virológiában betöltött szerepe mellett az LLC-MK2-t tumorogén potenciálját is vizsgálták. Bár bizonyos transzformált tulajdonságokkal rendelkezik, például képes lágy agarban növekedni, in vivo modellekben nem képez tumort, ami korlátozott tumorigén kockázatra utal. Ez a tulajdonság még inkább aláhúzza hasznosságát mint in vitro vizsgálatok modellsejtvonalát, ugyanakkor megerősíti alkalmatlanságát terápiás vagy in vivo alkalmazásokra.
Organism	Rhesus makákó
Tissue	Vese
Synonyms	Llc-Mk2, LLC-MK-2, LLC-MK2 Original, LLCMK2, LLcMK2, Lilly Laboratories Culture-Monkey Kidney 2 (Lilly Laboratories Kultúra-Majomvese 2)

Jellemzők

Age	Felnőtt
Morphology	Epithelialis
Growth properties	Adherent

Szabályozási adatok

Citation	LLC-MK2 (Cytion katalógusszám: 305149)

Product sheet

LLC-MK2 (eredeti) sejtek | 305149

Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9544
CellosaurusAccession	CVCL_3009

Biomolekuláris adatok

Protein expression	Plazminogén-aktivátor

A kezelése

Culture Medium	199-es közeg, w: 2,7 mM stabil glutamin, w: 2,2 g/L NaHCO3, w: EBSS (Cytion cikkszám: 820101a)
Supplements	A táptalajt 1% lószérummal egészítsük ki
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Távolítsa el a régi táptalajt a megtapadt sejtekről, és mossa őket kalcium- és magnéziummentes PBS-szel. T25-ös lombikokhoz 3-5 ml PBS-t, T75-ös lombikokhoz pedig 5-10 ml-t használjunk. Ezután fedjük be a sejteket teljesen Accutase-zal, T25 lombikok esetében 1-2 ml-t, T75 lombikok esetében 2,5 ml-t használva. A sejteket 8-10 percig hagyjuk szobahőmérsékleten inkubálni, hogy leváljanak. Az inkubálás után óvatosan keverjük össze a sejteket 10 ml tápfolyadékkal, hogy reszuszpendáljuk őket, majd centrifugáljuk 300xg-nél 3 percig. Dobja el a felülúszót, szuszpendálja újra a sejteket friss tápfolyadékban, és helyezze át őket új lombikokba, amelyek már friss tápfolyadékot tartalmaznak.
Seeding density	4×10^{4} sejt/cm^2
Fluid renewal	hetente 2-3 alkalommal
Freeze medium	Krioprezerváló táptalajként teljes növekedési táptalajt (beleértve az FBS-t) + 10% DMSO-t használunk a megfelelő kiolvasztás utáni életképesség érdekében, vagy CM-1-et (Cytion katalógusszám: 800100), amely optimalizált ozmoprotektánsokat és metabolikus stabilizátorokat tartalmaz a regenerálódás fokozása és a krio-indukált stressz csökkentése érdekében.

LLC-MK2 (eredeti) sejtek | 305149

Thawing and Culturing Cells

1. Ellenőrizze, hogy az injekciós üveg a szállításkor mélyhűtött marad-e, mivel a sejteket szárazjégen szállítják, hogy a szállítás során az optimális hőmérsékletet fenntartsák.
2. Átvételt követően vagy azonnal tárolja a krioampullát -150 °C alatti hőmérsékleten a sejtek integritásának megőrzése érdekében, vagy folytassa a 3. lépéssel, ha azonnali tenyésztésre van szükség.
3. Azonnali tenyésztés esetén gyorsan fel kell olvasztani az injekciós üveget úgy, hogy tiszta vízzel és antimikrobiális szerrel ellátott 37 °C-os vízfürdőbe merítjük, és 40-60 másodpercig óvatosan kevergetjük, amíg egy kis jégcsomó nem marad.
4. Az összes további lépést steril körülmények között, áramlásos elszívóban végezzük el, és nyitás előtt fertőtlenítsük a kriofülkét 70%-os etanollal.
5. Óvatosan nyissa fel a fertőtlenített fiolát, és a sejtszuszpenziót óvatosan összekeverve helyezze át egy 15 ml-es centrifugacsőbe, amely 8 ml szobahőmérsékletű táptalajt tartalmaz.
6. Centrifugáljuk az elegyet 300 x g-n 3 percig a sejtek szétválasztásához, és óvatosan dobjuk el a maradék fagyasztóközeget tartalmazó felülúszót.
7. Óvatosan szuszpendáljuk újra a sejtpelletet 10 ml friss táptalajban. Adhezív sejtek esetében ossza a szuszpenziót két T25-ös tenyésztőlombik között; szuszpenziós kultúrák esetében az összes tápfolyadékot tegye át egy T25-ös lombikba a hatékony sejtkölcsönhatás és növekedés elősegítése érdekében.
8. A sejtvonal folyamatos növekedése és fenntartása érdekében tartsa be a megállapított szubkultúra protokollokat, biztosítva a megbízható kísérleti eredményeket.

Incubation Atmosphere	37°C, 5%$_{CO2}$, párásított légkör.
Flask Coating	Nincs
Freezing Procedure	A kriokonzervált sejtvonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül -78 °C-on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.
Shipping Conditions	A kriokonzervált sejtvonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül -78 °C-on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

LLC-MK2 (eredeti) sejtek | 305149

Storage Conditions	Hosszú távú tartósítás céljából helyezze az üvegeket gőzfázisú folyékony nitrogénbe, körülbelül -150 és -196 °C közötti hőmérsékleten. A -80 °C-on történő tárolás csak rövid átmeneti lépésként fogadható el a folyékony nitrogénbe való átvitel előtt.

Minőségellenőrzés és molekuláris elemzés

Sterility	A mikoplazma-szennyeződést mind a PCR-alapú vizsgálatokkal, mind a lumineszcencia-alapú mikoplazma-kimutatási módszerekkel kizárják. A bakteriális, gombás vagy élesztőgombás szennyeződés elkerülése érdekében a sejtkultúrákat napi vizuális ellenőrzésnek vetik alá.