

## LLC-MK2 (eredeti) sejtek | 305149

## Általános információk

## Description

Az LLC-MK2 egy felnőtt rhesusmajmok (\*Macaca mulatta\*) veseszövetéből létrehozott folyamatos epitélisejtvonal. 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 diarrhoea 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 kémiaiilag meghatározott, szérumentes táptalajban tenyésztethető, ami lehetővé teszi a kontrollált kísérleti körülmények alkalmazását. A kutatások bebizonyították, hogy ezek a sejtek a növekedés veszélyeztetése nélkül adaptálhatók szérumentes körülményekhez, bár a kezdeti tenyészetek jelentős mennyiségű lószérumot tartalmazó táptalajon voltak tartva. A kémiaiilag 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 tumorigén potenciálját is vizsgálták. Bár bizonyos transzformált tulajdonságokkal rendelkezik, például képes lágy agarban növekedni, in vivo modellekben nem képez tumorokat, 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)

## LLC-MK2 (eredeti) sejtek | 305149

**Biosafety level** 1**NCBI\_TaxID** 9544**CellosaurusAccession** CVCL\_3009**Biomolekuláris adatok****Protein expression** Plasminogén-aktivátor**A kezelése****Culture Medium** 199-es közeg, w: 2,7 mM stabil glutamin, w: 2,2 g/L NaHCO<sub>3</sub>, 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 tápfolyadékból, és helyezze át őket új lombikokba, amelyek már friss tápfolyadékot tartalmaznak.**Seeding density**  $4 \times 10^4$  sejt/cm<sup>2</sup>**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 krioindukált 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  $-150\text{ °C}$  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  $37\text{ °C}$ -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 sejtuszpenziót óvatosan összekeverve helyezze át egy 15 ml-es centrifugacsőbe, amely 8 ml szobahőmérsékletű táptalajt tartalmaz.
6. Centrifugáljuk az elegyet  $300 \times g$ -n 3 percig a sejtek szétválasztásához, és óvatosan dobjuk el a maradék fagyasztóközeget tartalmazó felülúszót.
7. Óvatosan szuszpendáljuk újra a sejt pelletet 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 sejt vonal folyamatos növekedése és fenntartása érdekében tartsa be a megállapított szubkultúra protokollokat, biztosítva a megbízható kísérleti eredményeket.

**Incubation  
Atmosphere**

$37\text{ °C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , párasított légkör.

**Flask Coating**

Nincs

**Freezing  
Procedure**

A kriokonzervált sejt vonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül  $-78\text{ °C}$ -on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

**Shipping  
Conditions**

A kriokonzervált sejt vonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül  $-78\text{ °C}$ -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 / Genetikai profil / HLA

### 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 sejt kultúrákat napi vizuális ellenőrzésnek vetik alá.