Product sheet

LLC-MK2 (originalios) ląstelės | 305149

Bendra informacija

Description	LLC-MK2 yra iš suaugusių rezus beždžionių (*Macaca mulatta*) inkstų audinio sukurta nuolatinė epitelio ląstelių linija. Ši ląstelių linija iš pradžių buvo išskirta XX a. šeštajame dešimtmetyje tripsinizuojant šešių rezus beždžionių inkstų audinį. LLC-MK2 ląstelės pasižymi adherentinio augimo savybėmis ir buvo plačiai naudojamos virusologijoje dėl jų didelio jautrumo įvairiems virusams, įskaitant 1 galvijų virusinės diarėjos virusą, 1 žmogaus poliovirusą ir žmogaus koksaki virusą B4. Dėl savo kilmės ir jautrumo virusams ši ląstelių linija yra idealus modelis virusų replikacijai ir citopatogeniniam poveikiui tirti. LLC-MK2 ląstelių linija pasižymi tuo, kad ją galima auginti chemiškai apibrėžtoje terpėje be serumo, todėl galima kontroliuoti eksperimentų sąlygas. Tyrimai parodė, kad šios ląstelės gali būti pritaikytos prie sąlygų be serumo, nesumažinant jų augimo, nors pradinės kultūros buvo palaikomos terpėse, kuriose buvo nemažai arklių serumo. Prisitaikymas prie chemiškai apibrėžtos terpės yra ypač naudingas virusologiniams tyrimams, nes sumažina serumo sukeliamą kintamumą ir padeda palaikyti ilgalaikę ląstelių liniją. Be to, įrodyta, kad LLC-MK2 linija išlaiko panašų jautrumą virusams kaip pirminės beždžionių inkstų ląstelės, todėl ji yra patikima priemonė virusų titravimo ir vakcinų gamybos tyrimams. LLC-MK2 buvo tiriama ne tik dėl jos vaidmens virusologijoje, bet ir dėl jos navikinio potencialo. Nors jis pasižymi tam tikromis transformuotomis savybėmis, pavyzdžiui, gebėjimu augti minkštame agare, in vivo modeliuose jis nesudaro navikų, o tai rodo ribotą navikogeninę riziką. Ši savybė dar labiau pabrėžia jos, kaip modelinės ląstelių linijos, naudingumą in vitro tyrimams, kartu patvirtindama jos netinkamumą terapiniams ar in vivo taikymams.
Organism	Rezus makaka
Tissue	Inkstai
Synonyms	Llc-Mk2, LLC-MK-2, LLC-MK2 Original, LLCMK2, LLcMK2, Lilly Laboratories Culture-Monkey Kidney 2

Charakteristikos

Age	Suaugusiųjų
Morphology	Epitelis
Growth properties	Prigludęs

Reguliavimo duomenys

Citation	LLC-MK2 (Cytion katalogo numeris 305149)
Biosafety level	1

LLC-MK2 (originalios) ląstelės | 305149

NCBI_TaxID	9544
CellosaurusAccession	CVCL_3009

Biomolekuliniai duomenys

Protein expression	Plazminogeno aktyvatorius

Tvarkymas

Culture Medium	Terpė 199, w: 2,7 mM stabilus glutaminas, w: 2,2 g/L NaHCO3, w: EBSS (Cytion straipsnio numeris 820101a)
Supplements	Papildykite terpę 1 % arklių serumo
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Pašalinkite seną terpę nuo prilipusių ląstelių ir nuplaukite jas PBS, kuriame nėra kalcio ir magnio. T25 kolboms naudokite 3-5 ml PBS, o T75 kolboms - 5-10 ml. Tuomet visiškai užpilkite ląsteles "Accutase", naudodami 1-2 ml T25 kolboms ir 2,5 ml T75 kolboms. Leiskite ląstelėms inkubuotis kambario temperatūroje 8-10 minučių, kad jos atsiskirtų. Po inkubacijos atsargiai sumaišykite ląsteles su 10 ml terpės, kad jos vėl suspenduotų, tada 3 minutes centrifuguokite 300xg greičiu. Išmeskite supernatantą, vėl sutirpinkite ląsteles šviežioje terpėje ir perkelkite jas į naujas kolbas, kuriose jau yra šviežia terpė.
Seeding density	4 x 10^4 ląstelės/cm^2
Fluid renewal	2-3 kartus per savaitę
Freeze medium	Kaip kriokonservavimo terpę naudojame visišką augimo terpę (įskaitant FBS) + 10 % DMSO, kad būtų užtikrintas tinkamas gyvybingumas po atšildymo, arba CM-1 (Cytion katalogo numeris 800100), kurioje yra optimizuotų osmoprotektorių ir medžiagų apykaitos stabilizatorių, kad būtų pagerintas atsigavimas ir sumažintas kriokonservavimo sukeltas stresas.

LLC-MK2 (originalios) ląstelės | 305149

Thawing and Culturing Cells

1. Patikrinkite, ar pristatant buteliuką jis išlieka gerai užšaldytas, nes ląstelės gabenamos ant sauso ledo, kad gabenimo metu būtų palaikoma optimali temperatūra.
2. Gavę iš karto laikykite kriovialą žemesnėje nei -150 °C temperatūroje, kad užtikrintumėte ląstelių vientisumo išsaugojimą, arba pereikite prie 3 veiksmo, jei reikia nedelsiant kultivuoti.
3. Jei norite nedelsiant pradėti kultivuoti, greitai atšildykite buteliuką panardindami jį į 37 °C temperatūros vandens vonelę su švariu vandeniu ir antimikrobine priemone, švelniai maišydami 40-60 sekundžių, kol liks nedidelis ledo gabalėlis.
4. Visus tolesnius veiksmus atlikite steriliomis sąlygomis srauto gaubte, prieš atidarydami kriovialą dezinfekuokite jį 70 % etanoliu.
5. Atsargiai atidarykite dezinfekuotą buteliuką ir perpilkite ląstelių suspensiją į 15 ml centrifugos mėgintuvėlį, kuriame yra 8 ml kambario temperatūros mitybinės terpės, atsargiai išmaišykite.
6. Mišinį centrifuguokite 300 x g greičiu 3 minutes, kad atsiskirtų ląstelės, ir atsargiai išmeskite supernatantą su šaldymo terpės likučiais.
7. Švelniai resuspenduokite ląstelių granules 10 ml šviežios mitybinės terpės. Jei ląstelės yra prigludusios, suspensiją padalykite į dvi T25 kolbas; jei tai suspensinės kultūros, visą terpę perkelkite į vieną T25 kolbą, kad paskatintumėte veiksmingą ląstelių sąveiką ir augimą.
8. Laikykitės nustatytų subkultūrų protokolų, kad ląstelių linija nuolat augtų ir būtų palaikoma, taip užtikrinant patikimus eksperimentų rezultatus.

Incubation Atmosphere	37 °C, 5 % $_{CO2}$, drėkintoje atmosferoje.
Flask Coating	Nėra
Freezing Procedure	Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug -78 °C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelkite mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.
Shipping Conditions	Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug -78 °C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelkite mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

LLC-MK2 (originalios) ląstelės | 305149

Storage Conditions	Norėdami ilgai saugoti, įdėkite buteliukus į garų fazės skystą azotą maždaug -150-196 °C temperatūroje. Laikymas -80 °C temperatūroje yra priimtinas tik kaip trumpas tarpinis etapas prieš perkeliant į skystąjį azotą.

Kokybės kontrolė ir molekulinė analizė

Sterility	Mikoplazmos užterštumas atmetamas taikant PGR pagrįstus tyrimus ir liuminescencinius mikoplazmos aptikimo metodus. Siekiant užtikrinti, kad nebūtų užteršimo bakterijomis, grybeliais ar mielėmis, ląstelių kultūros kasdien vizualiai tikrinamos.