Product sheet

LLC-MK2 (oriģinālās) šūnas | 305149

Vispārīga informācija

Description	LLC-MK2 ir nepārtraukta epitēlija šūnu līnija, kas izveidota no pieaugušu rezus pērtiķu (*Macaca mulatta*) nieru audiem. Šo šūnu līniju sākotnēji izolēja pagājušā gadsimta 50. gados, tripsinizējot sešu rēzus pērtiķu nieru audu kopumu. LLC-MK2 šūnām piemīt adherentas augšanas īpašības, un tās ir plaši izmantotas virusoloģijā, pateicoties to augstajai uzņēmībai pret dažādiem vīrusiem, tostarp govju vīrusu diarejas vīrusu 1, cilvēka poliovīrusu 1 un cilvēka koksackie vīrusu B4. Šūnu līnijas izcelsme un uzņēmība pret vīrusiem padara to par ideālu modeli vīrusu replikācijas un citopatoģenētiskās iedarbības izpētei. LLC-MK2 šūnu līnija ir pazīstama ar to, ka to var kultivēt ķīmiski definētā barotnē bez seruma, kas ļauj kontrolēt eksperimentālos apstākļus. Pētījumi ir pierādījuši, ka šīs šūnas var pielāgot bezseruma apstākļiem, neapdraudot to augšanu, lai gan sākotnējās kultūras tika uzturētas barotnēs, kas satur ievērojamu daudzumu zirgu seruma. Pielāgošanās ķīmiski definētām barotnēm ir īpaši izdevīga virusoloģiskos pētījumos, jo tā samazina seruma radīto mainīgumu un veicina ilgtermiņa šūnu līnijas uzturēšanu. Turklāt ir pierādīts, ka LLC-MK2 līnija saglabā vīrusu jutību, kas ir salīdzināma ar primārajām pērtiķu nieru šūnām, padarot to par uzticamu instrumentu vīrusu titrēšanas un vakcīnu ražošanas pētījumiem. Papildus tās nozīmei virusoloģijā LLC-MK2 līnija ir pētīta arī attiecībā uz tās audzēja potenciālu. Lai gan tai piemīt noteiktas transformētas īpašības, piemēram, spēja augt mīkstā agārā, in vivo modeļos tā neveido audzējus, kas liecina par ierobežotu tumorogēnu risku. Šī īpašība vēl vairāk pasvītro tās kā modeļa šūnu līnijas lietderību in vitro pētījumiem, vienlaikus apstiprinot tās nepiemērotību terapeitiskiem vai in vivo lietojumiem.
Organism	Rezus makaka
Tissue	Nieres
Synonyms	Llc-Mk2, LLC-MK-2, LLC-MK2 Original, LLCMK2, LLcMK2, Lilly Laboratories Culture-Monkey Kidney 2

Raksturojums

Age	Pieaugušo
Morphology	Epitēlija
Growth properties	Adherent

Normatīvie dati

Citation	LLC-MK2 (Cytion kataloga numurs 305149)
Biosafety level	1

LLC-MK2 (oriģinālās) šūnas | 305149

NCBI_TaxID	9544
CellosaurusAccession	CVCL_3009

Biomolekulārie dati

Protein expression	Plazminogēna aktivators

Darbs ar

Culture Medium	Barotne 199, w: 2,7 mM stabils glutamīns, w: 2,2 g/L NaHCO3, w: EBSS (Cytion izstrādājuma numurs 820101a)
Supplements	Papildiniet barotni ar 1% zirgu seruma
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Noņemt veco barotni no pielipušajām šūnām un mazgāt tās ar PBS, kurā nav kalcija un magnija. T25 kolbām izmantojiet 3-5 ml PBS, bet T75 kolbām - 5-10 ml. Pēc tam pilnībā pārklājiet šūnas ar Accutase, izmantojot 1-2 ml T25 kolbām un 2,5 ml T75 kolbām. Ļaujiet šūnām inkubēties istabas temperatūrā 8-10 minūtes, lai tās atdalītos. Pēc inkubācijas uzmanīgi samaisiet šūnas ar 10 ml barotnes, lai tās atkārtoti suspendētu, pēc tam centrifugējiet 3 minūtes ar 300xg. Izmetiet supernatantu, atkārtoti suspendējiet šūnas svaigā barotnē un pārvietojiet tās jaunās kolbās, kurās jau ir svaiga barotne.
Seeding density	4 x 10^4 šūnas/cm^2
Fluid renewal	2 līdz 3 reizes nedēļā
Freeze medium	Kā kriokonservēšanas barotni mēs izmantojam pilnvērtīgu augšanas barotni (ieskaitot FBS) + 10 % DMSO, lai nodrošinātu pietiekamu dzīvotspēju pēc atkausēšanas, vai CM-1 (Cytion kataloga numurs 800100), kas ietver optimizētus osmoprotektorus un metaboliskos stabilizatorus, lai uzlabotu atveseļošanos un samazinātu krioinducēto stresu.

LLC-MK2 (oriģinālās) šūnas | 305149

Thawing and Culturing Cells

1. Pārliecinieties, ka pēc piegādes flakons paliek dziļi sasaldēts, jo šūnas tiek sūtītas uz sausā ledus, lai pārvadāšanas laikā saglabātu optimālu temperatūru.

2. Pēc saņemšanas vai nu nekavējoties uzglabāt kriovialu temperatūrā, kas zemāka par -150 °C, lai nodrošinātu šūnu integritātes saglabāšanu, vai arī turpināt 3. posmu, ja nepieciešama tūlītēja kultivēšana.

3. Tūlītējas kultivēšanas gadījumā ātri atkausējiet flakonu, iegremdējot to 37°C ūdens vannā ar tīru ūdeni un antibakteriālu līdzekli, viegli maisot 40-60 sekundes, līdz paliek neliels ledus gabaliņš.

4. Visas turpmākās darbības veiciet sterilos apstākļos plūsmas nosūcējā, pirms atvēršanas dezinficējot kriovialu ar 70% etanolu.

5. Uzmanīgi atveriet dezinficēto flakonu un pārnesiet šūnu suspensiju 15 ml centrifūgas mēģenē, kurā ir 8 ml istabas temperatūras barotnes, uzmanīgi samaisot.

6. Centrifugējiet maisījumu ar 300 x g 3 minūtes, lai atdalītu šūnas, un uzmanīgi izmetiet virskārtu, kas satur saldēšanas barotnes atlikumus.

7. Viegli resuspendēt šūnu granulas 10 ml svaigas barotnes. Adhēzijas šūnu gadījumā suspensiju sadalīt divās T25 kolbās; suspensijas kultūrām visu barotni pārnest vienā T25 kolbā, lai veicinātu efektīvu šūnu mijiedarbību un augšanu.

8. Ievērojiet noteiktos subkultūru protokolus, lai nodrošinātu nepārtrauktu šūnu līnijas augšanu un uzturēšanu, tādējādi nodrošinot uzticamus eksperimentu rezultātus.

Incubation Atmosphere	37°C, 5% $_{CO2}$, mitrināta atmosfēra.
Flask Coating	Neviens
Freezing Procedure	Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidruma daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

LLC-MK2 (oriģinālās) šūnas | 305149

Shipping Conditions	Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidruma daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.
Storage Conditions	Ilgstošai uzglabāšanai flakonus ievietojiet šķidrā slāpeklī ar tvaika fāzi aptuveni -150 līdz -196 °C temperatūrā. Uzglabāšana -80 °C temperatūrā ir pieļaujama tikai kā īss starpposms pirms pārvietošanas uz šķidro slāpekli.

Kvalitātes kontrole un molekulārā analīze

Sterility	Mikoplazmas piesārņojums tiek izslēgts, izmantojot gan uz PCR balstītus testus, gan uz luminiscenci balstītas mikoplazmas noteikšanas metodes. Lai pārliecinātos, ka nav baktēriju, sēnīšu vai rauga piesārņojuma, šūnu kultūras katru dienu vizuāli pārbauda.