Product sheet

Komórki LLC-MK2 (oryginalne) | 305149

Informacje ogólne

Description	LLC-MK2 jest ciągłą nabłonkową linią komórkową utworzoną z tkanki nerkowej dorosłych małp rezus (*Macaca mulatta*). Ta linia komórkowa została pierwotnie wyizolowana w latach pięćdziesiątych XX wieku poprzez trypsynizację połączonej tkanki nerkowej sześciu małp rezus. Komórki LLC-MK2 wykazują właściwości wzrostu przylegającego i były szeroko stosowane w wirusologii ze względu na ich wysoką podatność na różne wirusy, w tym wirus biegunki wirusowej bydła 1, ludzki wirus polio 1 i ludzki wirus coxsackie B4. Pochodzenie linii komórkowej i podatność na wirusy sprawiają, że jest ona idealnym modelem do badania replikacji wirusów i efektów cytopatogennych. Linia komórkowa LLC-MK2 jest znana ze swojej zdolności do hodowli w chemicznie zdefiniowanych pożywkach bez surowicy, co pozwala na kontrolowane warunki eksperymentalne. Badania wykazały, że komórki te można dostosować do warunków bez surowicy bez uszczerbku dla wzrostu, chociaż początkowe hodowle były utrzymywane w pożywkach zawierających znaczne ilości surowicy końskiej. Adaptacja do chemicznie zdefiniowanych mediów jest szczególnie korzystna dla badań wirusologicznych, ponieważ minimalizuje zmienność wprowadzaną przez surowicę i wspiera długoterminowe utrzymanie linii komórkowej. Ponadto wykazano, że linia LLC-MK2 utrzymuje wrażliwość na wirusy porównywalną z pierwotnymi komórkami nerki małpy, co czyni ją niezawodnym narzędziem do miareczkowania wirusów i badań nad produkcją szczepionek. Oprócz roli w wirusologii, LLC-MK2 badano również pod kątem potencjału nowotworowego. Chociaż wykazuje pewne cechy transformacji, takie jak zdolność do wzrostu w miękkim agarze, nie tworzy guzów w modelach in vivo, co sugeruje ograniczone ryzyko nowotworzenia. Ta cecha dodatkowo podkreśla jej użyteczność jako modelowej linii komórkowej do badań in vitro, jednocześnie potwierdzając jej nieprzydatność do zastosowań terapeutycznych lub in vivo.
Organism	Makak rezus
Tissue	Nerka
Synonyms	Llc-Mk2, LLC-MK-2, LLC-MK2 Original, LLCMK2, LLcMK2, Lilly Laboratories Culture-Monkey Kidney 2

Charakterystyka

Age	Dorosły
Morphology	Nabłonek
Growth properties	Adherent

Dane regulacyjne

Citation	LLC-MK2 (numer katalogowy Cytion 305149)

Komórki LLC-MK2 (oryginalne) | 305149

Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9544
CellosaurusAccession	CVCL_3009

Dane biomolekularne

Protein expression	Aktywator plazminogenu

Obsługa

Culture Medium	Medium 199, w: 2,7 mM stabilnej glutaminy, w: 2,2 g/L NaHCO3, w: EBSS (numer artykułu Cytion 820101a)
Supplements	Uzupełnić pożywkę 1% surowicą końską
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Usuń starą pożywkę z przylegających komórek i przemyj je PBS, który nie zawiera wapnia i magnezu. W przypadku kolb T25 należy użyć 3-5 ml PBS, a w przypadku kolb T75 5-10 ml. Następnie całkowicie pokryj komórki Accutase, używając 1-2 ml dla kolb T25 i 2,5 ml dla kolb T75. Pozwól komórkom inkubować w temperaturze pokojowej przez 8-10 minut, aby je oddzielić. Po inkubacji delikatnie wymieszaj komórki z 10 ml pożywki, aby ponownie je zawiesić, a następnie odwiruj przy 300xg przez 3 minuty. Odrzucić supernatant, ponownie zawiesić komórki w świeżej pożywce i przenieść je do nowych kolb zawierających już świeżą pożywkę.
Split ratio	1: 3 do 1: 4
Seeding density	4×10^4 kom^{órek}/cm^2
Fluid renewal	2 do 3 razy w tygodniu
Freeze medium	Jako pożywki do kriokonserwacji używamy kompletnej pożywki wzrostowej (w tym FBS) + 10% DMSO w celu zapewnienia odpowiedniej żywotności po rozmrożeniu lub CM-1 (numer katalogowy Cytion 800100), która zawiera zoptymalizowane osmoprotektanty i stabilizatory metaboliczne w celu zwiększenia regeneracji i zmniejszenia stresu wywołanego kriokonserwacją.

Komórki LLC-MK2 (oryginalne) | 305149

Thawing and Culturing Cells	1. Upewnij się, że fiolka pozostaje głęboko zamrożona w momencie dostawy, ponieważ komórki są wysyłane w suchym lodzie, aby utrzymać optymalną temperaturę podczas transportu. 2. Po otrzymaniu należy natychmiast przechowywać fiolkę w temperaturze poniżej -150°C, aby zapewnić zachowanie integralności komórek, lub przejść do kroku 3, jeśli wymagana jest natychmiastowa hodowla. 3. W przypadku natychmiastowej hodowli należy szybko rozmrozić fiolkę, zanurzając ją w łaźni wodnej o temperaturze 37°C z czystą wodą i środkiem przeciwdrobnoustrojowym, delikatnie mieszając przez 40-60 sekund, aż pozostanie niewielka grudka lodu. 4. Wykonaj wszystkie kolejne kroki w sterylnych warunkach w kapturze przepływowym, dezynfekując fiolkę 70% etanolem przed otwarciem. 5. Ostrożnie otworzyć zdezynfekowaną fiolkę i przenieść zawiesinę komórek do 15 ml probówki wirówkowej zawierającej 8 ml podłoża hodowlanego o temperaturze pokojowej, delikatnie mieszając. 6. Wirować mieszaninę z prędkością 300 x g przez 3 minuty w celu oddzielenia komórek i ostrożnie odrzucić supernatant zawierający pozostałości pożywki do zamrażania. 7. Delikatnie ponownie zawiesić osad komórek w 10 ml świeżego podłoża hodowlanego. W przypadku komórek przylegających, rozdzielić zawiesinę pomiędzy dwie kolby hodowlane T25; w przypadku hodowli zawiesinowych, przenieść całą pożywkę do jednej kolby T25 w celu promowania skutecznej interakcji i wzrostu komórek. 8. Przestrzegaj ustalonych protokołów podhodowli w celu ciągłego wzrostu i utrzymania linii komórkowej, zapewniając wiarygodne wyniki eksperymentów.
Incubation Atmosphere	37°C, 5%$_{CO2}$, nawilżona atmosfera.
Flask Coating	Brak
Freezing Procedure	Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Komórki LLC-MK2 (oryginalne) | 305149

Shipping Conditions	Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolki do odpowiedniego miejsca przechowywania.
Storage Conditions	W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiolki w ciekłym azocie w fazie lotnej w temperaturze od -150 do -196 °C. Przechowywanie w temperaturze -80 °C jest dopuszczalne tylko jako krótki etap przejściowy przed przeniesieniem do ciekłego azotu.

Kontrola jakości i analiza molekularna

Sterility	Zanieczyszczenie mykoplazmą jest wykluczane przy użyciu zarówno testów opartych na PCR, jak i metod wykrywania mykoplazmy opartych na luminescencji. Aby upewnić się, że nie ma zanieczyszczenia bakteriami, grzybami lub drożdżami, hodowle komórkowe są poddawane codziennym kontrolom wizualnym.