Product sheet

Bunky LLC-MK2 (pôvodné) | 305149

Všeobecné informácie

Description	LLC-MK2 je kontinuálna epitelová bunková línia vytvorená z obličkového tkaniva dospelých opíc druhu rhesus (*Macaca mulatta*). Táto bunková línia bola pôvodne izolovaná v 50. rokoch 20. storočia trypsinizáciou združeného obličkového tkaniva šiestich opíc druhu rhesus. Bunky LLC-MK2 vykazujú adherentné rastové vlastnosti a vo veľkej miere sa využívajú vo virológii vďaka ich vysokej citlivosti na rôzne vírusy vrátane vírusu bovinnej vírusovej hnačky 1, ľudského poliovírusu 1 a ľudského coxsackievírusu B4. Pôvod bunkovej línie a jej citlivosť na vírusy z nej robia ideálny model na štúdium replikácie vírusov a cytopatogénnych účinkov. Bunková línia LLC-MK2 je známa svojou schopnosťou kultivácie v chemicky definovaných médiách bez séra, čo umožňuje kontrolované experimentálne podmienky. Výskum preukázal, že tieto bunky možno prispôsobiť podmienkam bez obsahu séra bez toho, aby sa narušil ich rast, hoci pôvodné kultúry boli udržiavané v médiách obsahujúcich značné množstvo konského séra. Prispôsobenie chemicky definovaným médiám je obzvlášť výhodné pre virologické štúdie, pretože minimalizuje variabilitu spôsobenú sérom a podporuje dlhodobé udržiavanie bunkových línií. Okrem toho sa ukázalo, že línia LLC-MK2 si zachováva citlivosť na vírus porovnateľnú s primárnymi bunkami opičích obličiek, čo z nej robí spoľahlivý nástroj na titráciu vírusov a štúdie výroby vakcín. Okrem úlohy vo virológii sa LLC-MK2 skúmala aj z hľadiska jej nádorového potenciálu. Hoci vykazuje určité transformované vlastnosti, ako napríklad schopnosť rásť v mäkkom agare, nevytvára nádory v modeloch in vivo, čo naznačuje obmedzené tumorigénne riziko. Táto vlastnosť ďalej zdôrazňuje jej užitočnosť ako modelovej bunkovej línie pre štúdie in vitro, pričom potvrdzuje jej nevhodnosť pre terapeutické alebo in vivo aplikácie.
Organism	Makak rhesus
Tissue	Obličky
Synonyms	Llc-Mk2, LLC-MK-2, LLC-MK2 Original, LLCMK2, LLcMK2, Lilly Laboratories Culture-Monkey Kidney 2

Charakteristika

Age	Dospelí
Morphology	Epitelové
Growth properties	Adherent

Regulačné údaje

Citation	LLC-MK2 (katalógové číslo Cytion 305149)
Biosafety level	1

Bunky LLC-MK2 (pôvodné) | 305149

NCBI_TaxID	9544
CellosaurusAccession	CVCL_3009

Biomolekulárne údaje

Protein expression	Aktivátor plazminogénu

Spracovanie

Culture Medium	Médium 199, w: 2,7 mM stabilný glutamín, w: 2,2 g/l NaHCO3, w: EBSS (číslo článku Cytion 820101a)
Supplements	Doplňte médium 1% konským sérom
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Odstráňte staré médium z adherovaných buniek a premyte ich PBS, ktorý neobsahuje vápnik a horčík. Pre banky T25 použite 3 - 5 ml PBS a pre banky T75 použite 5 - 10 ml. Potom bunky úplne pokryte Accutase, pričom použite 1 - 2 ml pre banky T25 a 2,5 ml pre banky T75. Nechajte bunky inkubovať pri izbovej teplote 8-10 minút, aby sa oddelili. Po inkubácii jemne premiešajte bunky s 10 ml média, aby boli znovu suspendované, a potom ich 3 minúty odstreďujte pri 300xg. Supernatant zlikvidujte, bunky znovu rozmiešajte v čerstvom médiu a preneste ich do nových fliaš, ktoré už obsahujú čerstvé médium.
Seeding density	4 x 10^4 buniek/cm^2
Fluid renewal	2 až 3-krát týždenne
Freeze medium	Ako kryokonzervačné médium používame kompletné rastové médium (vrátane FBS) + 10 % DMSO na zabezpečenie primeranej životaschopnosti po rozmrazení alebo CM-1 (katalógové číslo 800100 spoločnosti Cytion), ktoré obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory na zlepšenie obnovy a zníženie stresu spôsobeného kryo.

Bunky LLC-MK2 (pôvodné) | 305149

Thawing and Culturing Cells	1. Overte si, že injekčná liekovka zostane pri doručení hlboko zmrazená, pretože bunky sa prepravujú na suchom ľade, aby sa počas prepravy udržala optimálna teplota. 2. Po prijatí buď okamžite uskladnite kryovialku pri teplote nižšej ako -150 °C, aby ste zabezpečili zachovanie bunkovej integrity, alebo prejdite na krok 3, ak je potrebná okamžitá kultivácia. 3. V prípade okamžitej kultivácie injekčnú liekovku rýchlo rozmrazte ponorením do vodného kúpeľa s teplotou 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálnym prostriedkom, pričom ju jemne miešajte 40 - 60 sekúnd, kým nezostane malý ľadový chumáč. 4. Všetky ďalšie kroky vykonajte v sterilných podmienkach v prietokovom digestore a pred otvorením kryovialku dezinfikujte 70 % etanolom. 5. Opatrne otvorte dezinfikovanú fľaštičku a preneste bunkovú suspenziu do 15 ml centrifugačnej skúmavky obsahujúcej 8 ml kultivačného média s izbovou teplotou a jemne premiešajte. 6. Zmes odstreďujte pri 300 x g počas 3 minút, aby sa bunky oddelili, a opatrne zlikvidujte supernatant obsahujúci zvyšky zmrazovacieho média. 7. Pelet buniek jemne resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačného média. V prípade adherentných buniek rozdeľte suspenziu medzi dve kultivačné banky T25; v prípade suspenzných kultúr preneste všetko médium do jednej banky T25, aby ste podporili účinnú interakciu a rast buniek. 8. Dodržiavajte zavedené subkultivačné protokoly na nepretržitý rast a udržiavanie bunkovej línie, čím sa zabezpečia spoľahlivé výsledky experimentov.
Incubation Atmosphere	37 °C, 5 % $_{CO2}$, zvlhčená atmosféra.
Flask Coating	Žiadne
Freezing Procedure	Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne -78 °C počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.
Shipping Conditions	Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne -78 °C počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

Bunky LLC-MK2 (pôvodné) | 305149

Storage Conditions	Na dlhodobé uchovávanie umiestnite injekčné liekovky do kvapalnej fázy dusíka v pare pri teplote približne -150 až -196 °C. Skladovanie pri teplote -80 °C je prijateľné len ako krátky prechodný krok pred presunom do tekutého dusíka.

Kontrola kvality a molekulárna analýza

Sterility	Kontaminácia mykoplazmami sa vylučuje pomocou testov založených na PCR a metód detekcie mykoplaziem založených na luminiscencii. Aby sa zabezpečilo, že nedošlo ku kontaminácii baktériami, hubami alebo kvasinkami, bunkové kultúry sa denne vizuálne kontrolujú.