

**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 NaHCO<sub>3</sub>, w: EBSS (číslo článku Cytion 820101a)**Supplements** Doplníte 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 odstredíte pri 300xg. Supernatant zlikvidujte, bunky znovu rozmiešajte v čerstvom médiu a preneste ich do nových fliaš, ktoré už obsahujú čerstvé médium.**Seeding density**  $4 \times 10^4$  buniek/cm<sup>2</sup>**Fluid renewal** 2 až 3-krát týždenne**Freeze medium** Ako kryokonzervačné médium používame kompletne 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 regenerácie a zníženie stresu spôsobeného kryom.

**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  $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ , 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  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$  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  $300 \times g$  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**

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$ , 5 %  $\text{CO}_2$ , 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  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$  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  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$  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 / Genetický profil / HLA

### Sterility

Kontaminácia mykoplazmami sa vylučuje pomocou testov založených na PCR a metód detekcie mykoplazmiem založených na luminiscencii.

Aby sa zabezpečilo, že nedošlo ku kontaminácii baktériami, hubami alebo kvasinkami, bunkové kultúry sa denne vizuálne kontrolujú.