

Celice LLC-MK2 (izvirne) | 305149

Splošne informacije

Description

LLC-MK2 je kontinuirana epiteljska celična linija, pridobljena iz ledvičnega tkiva odraslih opic rezus (*Macaca mulatta*). Ta celična linija je bila prvotno izolirana v petdesetih letih prejšnjega stoletja z trypsinizacijo skupnega ledvičnega tkiva šestih opic rezusov. Celice LLC-MK2 imajo adherentne rastne lastnosti in se zaradi visoke občutljivosti na različne viruse, vključno z virusom goveje virusne diareje 1, človeškim poliovirusom 1 in človeškim coxsackievirusom B4, pogosto uporabljajo v virologiji. Zaradi izvora in občutljivosti na viruse je celična linija idealen model za preučevanje replikacije virusov in citopatogenih učinkov.

Celična linija LLC-MK2 je znana po tem, da jo je mogoče gojiti v kemično določenih medijih brez seruma, kar omogoča nadzorovane eksperimentalne pogoje. Raziskave so pokazale, da je te celice mogoče prilagoditi pogojem brez seruma, ne da bi bila ogrožena rast, čeprav so bile začetne kulture vzdrževane v medijih, ki so vsebovali precejšnje količine konjskega seruma. Prilagoditev na kemično določena gojišča je še posebej koristna za virološke študije, saj zmanjšuje variabilnost, ki jo povzroča serum, in podpira dolgoročno vzdrževanje celičnih linij. Poleg tega je bilo dokazano, da linija LLC-MK2 ohranja občutljivost na viruse, primerljivo s primarnimi opičjimi ledvičnimi celicami, zaradi česar je zanesljivo orodje za študije titracije virusov in proizvodnje cepiv.

Poleg njene vloge v virologiji je bila linija LLC-MK2 raziskana tudi zaradi njenega tumorigenega potenciala. Čeprav ima nekatere preoblikovane lastnosti, kot je sposobnost rasti v mehkem agarju, v modelih in vivo ne tvori tumorjev, kar kaže na omejeno tumorigeno tveganje. Ta značilnost še dodatno poudarja njeno uporabnost kot modelne celične linije za študije in vitro, hkrati pa potrjuje njeno neprimernost za terapevtsko uporabo ali uporabo in vivo.

Organism

Makak rezus

Tissue

Ledvice

Synonyms

Llc-Mk2, LLC-MK-2, LLC-MK2 Original, LLCMK2, LlcMK2, Lilly Laboratories Culture-Monkey Kidney 2

Značilnosti

Age

Odrasli

Morphology

Epiteljski

Growth properties

Pripadajoče

Regulativni podatki

Citation

LLC-MK2 (kataloška številka Cytion 305149)

Biosafety level

1

Celice LLC-MK2 (izvirne) | 305149

NCBI_TaxID 9544

CellosaurusAccession CVCL_3009

Biomolekularni podatki

Protein expression Aktivator plazminogena

Ravnanje s spletno stranjoCulture Medium Medij 199, w: 2,7 mM stabilnega glutamina, w: 2,2 g/L NaHCO₃, w: EBSS (številka izdelka Cytion 820101a)

Supplements Gojišče dopolnite z 1 % konjskega seruma

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Odstranite staro gojišče z adherentnih celic in jih sperite s PBS, ki ne vsebuje kalcija in magnezija. Za bučke T25 uporabite 3-5 ml PBS, za bučke T75 pa 5-10 ml. Nato celice popolnoma prekrijte z Accutase, pri čemer uporabite 1-2 ml za bučke T25 in 2,5 ml za bučke T75. Celice pustite inkubirati pri sobni temperaturi 8-10 minut, da se ločijo. Po inkubaciji celice nežno premešajte z 10 ml gojišča, da se ponovno suspendirajo, nato jih 3 minute centrifugirajte pri 300xg. Zavržite supernatant, ponovno suspendirajte celice v svežem gojišču in jih prenesite v nove bučke, ki že vsebujejo sveže gojišče.

Seeding density 4×10^4 celic/cm²

Fluid renewal 2 do 3-krat na teden

Freeze medium Kot gojišče za kriokonzervacijo uporabljamo popolno rastno gojišče (vključno s FBS) + 10 % DMSO za ustrezno vitalnost po odmrznitvi ali CM-1 (kataloška številka 800100 podjetja Cytion), ki vključuje optimizirane osmoprotektante in presnovne stabilizatorje za izboljšanje okrevanja in zmanjšanje stresa, povzročene s kriom.

Celice LLC-MK2 (izvirne) | 305149

Thawing and Culturing Cells

1. Prepričajte se, da je viala ob dostavi globoko zamrznjena, saj se celice pošiljajo na suhem ledu, da se med prevozom ohranijo optimalne temperature.
2. Po prejemu kriovial takoj shranite pri temperaturi pod $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, da zagotovite ohranitev celične celovitosti, ali pa nadaljujte s korakom 3, če je potrebno takojšnje gojenje.
3. Za takojšnje gojenje vialo hitro odtalite tako, da jo potopite v vodno kopel s čisto vodo in protimikrobnim sredstvom pri $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ ter 40-60 sekund nežno mešate, dokler ne ostane majhen ledeni kepica.
4. Vse nadaljnje korake izvajajte v sterilnih pogojih v pretočni nape, pred odprtjem pa kriovial razkužite s 70 % etanolom.
5. Previdno odprite razkuženo vialo in celično suspenzijo prenesite v 15-mililitrsko centrifugirno epruveto, ki vsebuje 8 ml gojišča sobne temperature, ter nežno premešajte.
6. Mešanico centrifugirajte pri $300 \times g$ 3 minute, da ločite celice, in previdno zavržite supernatant, ki vsebuje ostanke zamrzovalnega gojišča.
7. Pelet celic nežno ponovno suspendirajte v 10 ml svežega gojišča. Pri adherentnih celicah suspenzijo razdelite med dve bučki T25; pri suspenzijskih kulturah prenesite vse gojišče v eno bučko T25, da spodbudite učinkovito interakcijo in rast celic.
8. Upoštevajte uveljavljene protokole subkultur za nadaljnjo rast in vzdrževanje celične linije ter tako zagotovite zanesljive rezultate poskusov.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5 % CO_2 , vlažno ozračje.

Flask Coating

Nič

Freezing Procedure

Kriokonzervirane celične linije se pošiljajo na suhem ledu v potrjeni, izolirani embalaži z zadostno količino hladilnega sredstva, da se med prevozom vzdržuje približno $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Ob prejemu takoj preglejte embalažo in vialo nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.

Shipping Conditions

Kriokonzervirane celične linije se pošiljajo na suhem ledu v potrjeni, izolirani embalaži z zadostno količino hladilnega sredstva, da se med prevozom vzdržuje približno $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Ob prejemu takoj preglejte embalažo in vialo nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.

Celice LLC-MK2 (izvirne) | 305149

Storage Conditions

Za dolgotrajno shranjevanje vial postavite v tekoči dušik v parni fazi pri približno -150 do -196 °C. Shranjevanje pri -80 °C je sprejemljivo le kot kratek vmesni korak pred prenosom v tekoči dušik.

Nadzor kakovosti / Genetski profil / HLA

Sterility

Kontaminacija z mikoplazmo se izključi z uporabo testov na podlagi PCR in metod za odkrivanje mikoplazme na podlagi luminiscence.

Da se zagotovi, da ni kontaminacije z bakterijami, glivami ali kvasovkami, se celične kulture dnevno vizualno pregledujejo.