Product sheet

LLC-MK2 (Orijinal) Hücreler | 305149

Genel bilgi

Description	LLC-MK2, yetişkin rhesus maymunlarının (*Macaca mulatta*) böbrek dokusundan oluşturulan sürekli bir epitel hücre hattıdır. Bu hücre hattı ilk olarak 1950'lerde altı rhesus maymunundan alınan havuzlanmış böbrek dokusunun tripsinizasyonu yoluyla izole edilmiştir. LLC-MK2 hücreleri yapışık büyüme özellikleri gösterir ve sığır viral ishal virüsü 1, insan poliovirüsü 1 ve insan coxsackievirus B4 dahil olmak üzere çeşitli virüslere karşı yüksek duyarlılıkları nedeniyle virolojide yaygın olarak kullanılmıştır. Hücre hattının kökeni ve virüs duyarlılığı, onu viral replikasyon ve sitopatojenik etkileri incelemek için ideal bir model haline getirmektedir. LLC-MK2 hücre hattı, kontrollü deneysel koşullara olanak tanıyan kimyasal olarak tanımlanmış, serumsuz ortamda kültürlenebilme özelliğiyle bilinir. Araştırmalar, ilk kültürlerin önemli miktarda at serumu içeren ortamlarda muhafaza edilmesine rağmen, bu hücrelerin büyümeden ödün vermeden serumsuz koşullara adapte edilebileceğini göstermiştir. Kimyasal olarak tanımlanmış ortama adaptasyon, serumun getirdiği değişkenliği en aza indirdiği ve uzun süreli hücre hattı bakımını desteklediği için virolojik çalışmalar için özellikle avantajlıdır. Ayrıca, LLC-MK2 hattının birincil maymun böbrek hücreleriyle karşılaştırılabilir virüs hassasiyetini koruduğu gösterilmiştir, bu da onu viral titrasyon ve aşı üretim çalışmaları için güvenilir bir araç haline getirmektedir. Virolojideki rolüne ek olarak, LLC-MK2 tümörijenik potansiyeli açısından da araştırılmıştır. Yumuşak agarda büyüme yeteneği gibi belirli dönüştürülmüş özellikler sergilemesine rağmen, in vivo modellerde tümör oluşturmaz, bu da sınırlı bir tümörijenik riske işaret eder. Bu özellik, in vitro çalışmalar için bir model hücre hattı olarak faydasının altını çizerken, terapötik veya in vivo uygulamalar için uygun olmadığını doğrulamaktadır.
Organism	Rhesus makağı
Tissue	Böbrek
Synonyms	Llc-Mk2, LLC-MK-2, LLC-MK2 Original, LLCMK2, LLcMK2, Lilly Laboratories Culture-Monkey Kidney 2

Özellikler

Age	Yetişkin
Morphology	Epitelyal
Growth properties	Yapışık

Düzenleyici Veriler

Citation	LLC-MK2 (Cytion katalog numarası 305149)
Biosafety level	1

LLC-MK2 (Orijinal) Hücreler | 305149

NCBI_TaxID	9544
CellosaurusAccession	CVCL_3009

Biyomoleküler Veriler

Protein expression	Plazminojen aktivatörü

Elleçleme

Culture Medium	Medium 199, w: 2,7 mM stabil Glutamin, w: 2,2 g/L NaHCO3, w: EBSS (Cytion makale numarası 820101a)
Supplements	Ortamı %1 at serumu ile takviye edin
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Yapışık hücrelerden eski ortamı çıkarın ve kalsiyum ve magnezyum içermeyen PBS ile yıkayın. T25 şişeleri için 3-5 ml PBS ve T75 şişeleri için 5-10 ml kullanın. Ardından, T25 flasklar için 1-2 ml ve T75 flasklar için 2,5 ml kullanarak hücreleri Accutase ile tamamen kaplayın. Hücreleri ayırmak için oda sıcaklığında 8-10 dakika inkübasyona bırakın. İnkübasyondan sonra, hücreleri yeniden süspanse etmek için 10 ml besiyeriyle hafifçe karıştırın, ardından 300xg'de 3 dakika santrifüjleyin. Süpernatantı atın, hücreleri taze besiyerinde yeniden süspanse edin ve zaten taze besiyeri içeren yeni şişelere aktarın.
Seeding density	4 x 10^4 hücre/cm^2
Fluid renewal	haftada 2 ila 3 kez
Freeze medium	Kriyoprezervasyon ortamı olarak, yeterli çözülme sonrası canlılık için tam büyüme ortamı (FBS dahil) + %10 DMSO veya iyileşmeyi artırmak ve kriyo-indüklenmiş stresi azaltmak için optimize edilmiş ozmoprotektanlar ve metabolik stabilizatörler içeren CM-1 (Cytion katalog numarası 800100) kullanıyoruz.

LLC-MK2 (Orijinal) Hücreler | 305149

Thawing and Culturing Cells	1. Hücreler taşıma sırasında optimum sıcaklıkları korumak için kuru buz üzerinde gönderildiğinden, flakonun teslimat sırasında derin dondurulmuş halde kaldığını teyit edin. 2. Teslim aldıktan sonra, hücresel bütünlüğün korunmasını sağlamak için kriyoviali hemen -150°C'nin altındaki sıcaklıklarda saklayın veya hemen kültürleme gerekiyorsa 3. adıma geçin. 3. Derhal kültürleme için flakonu temiz su ve antimikrobiyal bir madde içeren 37°C'lik bir su banyosuna daldırıp küçük bir buz kümesi kalana kadar 40-60 saniye boyunca hafifçe çalkalayarak hızlıca çözün. 4. Sonraki tüm adımları steril koşullar altında bir akış başlığı içinde gerçekleştirin ve açmadan önce kriyoviyalleri %70 etanol ile dezenfekte edin. 5. Dezenfekte edilmiş flakonu dikkatlice açın ve hücre süspansiyonunu 8 ml oda sıcaklığında kültür ortamı içeren 15 ml'lik bir santrifüj tüpüne aktarın ve hafifçe karıştırın. 6. Hücreleri ayırmak için karışımı 300 x g'de 3 dakika santrifüjleyin ve artık dondurma ortamı içeren süpernatantı dikkatlice atın. 7. Hücre peletini 10 ml taze kültür ortamında yavaşça yeniden süspanse edin. Yapışık hücreler için, süspansiyonu iki T25 kültür şişesi arasında bölün; süspansiyon kültürleri için, etkili hücre etkileşimini ve büyümesini teşvik etmek üzere tüm ortamı tek bir T25 şişesine aktarın. 8. Hücre hattının sürekli büyümesi ve bakımı için belirlenmiş alt kültür protokollerine uyun ve güvenilir deneysel sonuçlar elde edin.
Incubation Atmosphere	37°C, %5 $_{CO2}$, nemlendirilmiş atmosfer.
Flask Coating	Yok
Freezing Procedure	Kriyoprezerve edilmiş hücre hatları, nakliye boyunca yaklaşık -78 °C'yi korumak için yeterli soğutucu akışkan içeren, onaylanmış, yalıtılmış ambalajlarda kuru buz üzerinde gönderilir. Teslim aldığınızda, kabı hemen inceleyin ve flakonları gecikmeden uygun depoya aktarın.
Shipping Conditions	Kriyoprezerve edilmiş hücre hatları, nakliye boyunca yaklaşık -78 °C'yi korumak için yeterli soğutucu akışkan içeren, onaylanmış, yalıtılmış ambalajlarda kuru buz üzerinde gönderilir. Teslim aldığınızda, kabı hemen inceleyin ve flakonları gecikmeden uygun depoya aktarın.

LLC-MK2 (Orijinal) Hücreler | 305149

Storage Conditions	Uzun süreli muhafaza için flakonları yaklaşık -150 ila -196 °C'de buhar fazlı sıvı nitrojen içine yerleştirin. 80 °C'de saklama yalnızca sıvı nitrojene aktarılmadan önce kısa bir ara adım olarak kabul edilebilir.

Kalite Kontrol ve Moleküler Analiz

Sterility	Mikoplazma kontaminasyonu hem PCR tabanlı tahliller hem de lüminesans tabanlı mikoplazma tespit yöntemleri kullanılarak dışlanır. Bakteriyel, fungal veya maya kontaminasyonu olmadığından emin olmak için hücre kültürleri günlük görsel incelemelere tabi tutulur.