Product sheet

Клітини LLC-MK2 (оригінал) | 305149

Загальна інформація

Description	LLC-MK2 - це безперервна епітеліальна клітинна лінія, отримана з ниркової тканини дорослих макак-резусів (*Macaca mulatta*). Ця клітинна лінія була вперше виділена в 1950-х роках шляхом трипсинізації об'єднаної ниркової тканини шести макак-резусів. Клітини LLC-MK2 демонструють адгезивний ріст і широко використовуються у вірусології завдяки своїй високій чутливості до різних вірусів, включаючи вірус вірусної діареї великої рогатої худоби 1, поліовірус людини 1 і вірус Коксакі B4. Походження клітинної лінії та її чутливість до вірусів роблять її ідеальною моделлю для вивчення реплікації вірусів та їх цитопатогенних ефектів. Клітинна лінія LLC-MK2 відома своєю здатністю культивуватися в хімічно визначених, безсироваткових середовищах, що дозволяє контролювати умови експерименту. Дослідження показали, що ці клітини можуть бути адаптовані до безсироваткових умов без шкоди для росту, хоча початкові культури підтримувалися в середовищах, що містять значну кількість кінської сироватки. Адаптація до хімічно визначених середовищ є особливо корисною для вірусологічних досліджень, оскільки вона мінімізує варіабельність, що вноситься сироваткою, і підтримує довготривале підтримання клітинної лінії. Крім того, було показано, що лінія LLC-MK2 зберігає чутливість до вірусів, порівнянну з первинними клітинами нирок мавп, що робить її надійним інструментом для титрування вірусів і досліджень з виробництва вакцин. На додаток до своєї ролі у вірусології, LLC-MK2 також досліджували на предмет її канцерогенного потенціалу. Хоча він демонструє певні трансформовані характеристики, такі як здатність рости в м'якому агарі, він не утворює пухлин в моделях in vivo, що свідчить про обмежений туморогенний ризик. Ця характеристика ще більше підкреслює її корисність як модельної клітинної лінії для досліджень in vitro, водночас підтверджуючи її непридатність для терапевтичного застосування або застосування in vivo.
Organism	Макака-резус
Tissue	Нирка
Synonyms	Llc-Mk2, LLC-MK-2, LLC-MK2 Original, LLCMK2, LLcMK2, Lilly Laboratories Culture-Monkey Kidney 2

Характеристики

Age	Дорослий
Morphology	Епітеліальний
Growth properties	Адепт

Нормативні дані

Citation	LLC-MK2 (каталожний номер Cytion 305149)

Клітини LLC-MK2 (оригінал) | 305149

Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9544
CellosaurusAccession	CVCL_3009

Біомолекулярні дані

Protein expression	Активатор плазміногену

Обробка

Culture Medium	Середовище 199, w: 2,7 мМ стабільного глютаміну, w: 2,2 г/л NaHCO3, w: EBSS (цит. номер 820101a)
Supplements	Додайте до середовища 1% кінської сироватки
Dissociation Reagent	Аккутаза
Subculturing	Видаліть старе середовище з прилиплих клітин і промийте їх PBS, в якому бракує кальцію і магнію. Для колб T25 використовуйте 3-5 мл PBS, а для колб T75 - 5-10 мл. Потім повністю покрийте клітини аккутазою, використовуючи 1-2 мл для колб T25 і 2,5 мл для колб T75. Залиште клітини інкубуватися при кімнатній температурі протягом 8-10 хвилин, щоб відокремити їх. Після інкубації обережно змішайте клітини з 10 мл середовища, щоб ресуспендувати їх, а потім центрифугуйте при 300xg протягом 3 хвилин. Викиньте надосадову рідину, ресуспендуйте клітини у свіжому середовищі та перенесіть їх у нові колби, які вже містять свіже середовище.
Seeding density	4×10^{4} клітини/см2
Fluid renewal	2-3 рази на тиждень
Freeze medium	Як середовище кріоконсервування ми використовуємо повне живильне середовище (включаючи FBS) + 10% ДМСО для адекватної життєздатності після відтавання або CM-1 (номер за каталогом Cytion 800100), до складу якого входять оптимізовані осмопротектори та метаболічні стабілізатори для прискорення відновлення та зменшення кріоіндукованого стресу.

Клітини LLC-MK2 (оригінал) | 305149

Thawing and Culturing Cells

1. Переконайтеся, що віал залишається глибоко замороженим після доставки, оскільки клітини транспортуються на сухому льоду для підтримання оптимальної температури під час транспортування.

2. Після отримання негайно зберігайте кріовіал при температурі нижче -150°C, щоб забезпечити збереження клітинної цілісності, або перейдіть до кроку 3, якщо потрібне негайне культивування.

3. Для негайного культивування швидко розморозьте віал, зануривши його у водяну баню з чистою водою і антимікробним засобом при температурі 37°C, обережно перемішуючи протягом 40-60 секунд, поки не залишиться невелика крижана грудка.

4. Всі наступні кроки виконуйте в стерильних умовах у проточній витяжній шафі, дезінфікуючи кріовіал 70% етанолом перед відкриттям.

5. Обережно відкрийте продезінфікований флакон і перенесіть клітинну суспензію в 15 мл центрифужну пробірку, що містить 8 мл культурального середовища кімнатної температури, обережно перемішуючи.

6. Відцентрифугуйте суміш при 300 x g протягом 3 хвилин, щоб відокремити клітини, і обережно викиньте надосадову рідину, що містить залишки заморожувального середовища.

7. Обережно ресуспендуйте осад клітин у 10 мл свіжого культурального середовища. Для адгезивних клітин розділіть суспензію між двома культуральними колбами T25; для суспензійних культур перенесіть все середовище в одну колбу T25, щоб сприяти ефективній взаємодії та росту клітин.

8. Дотримуйтесь встановлених протоколів субкультивування для продовження росту і підтримання клітинної лінії, забезпечуючи надійні результати експерименту.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% $_{CO2}$, волога атмосфера.

Flask Coating

Ні

Freezing Procedure

Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевіреній ізольованій упаковці з достатньою кількістю холодоагенту для підтримання температури приблизно -78 °C під час транспортування. При отриманні негайно огляньте контейнер і негайно перемістіть віали у відповідне місце для зберігання.

Клітини LLC-MK2 (оригінал) | 305149

Shipping Conditions	Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевіреній ізольованій упаковці з достатньою кількістю холодоагенту для підтримання температури приблизно -78 °C під час транспортування. При отриманні негайно огляньте контейнер і без зволікань перемістіть флакони у відповідне місце зберігання.
Storage Conditions	Для тривалого зберігання помістіть флакони в парофазний рідкий азот при температурі від -150 до -196 °C. Зберігання при -80 °C допустиме лише як короткий проміжний етап перед перенесенням у рідкий азот.

Контроль якості та молекулярний аналіз

Sterility	Зараження мікоплазмою виключається за допомогою аналізів на основі ПЛР та люмінесцентних методів виявлення мікоплазми. Щоб переконатися у відсутності бактеріального, грибкового або дріжджового забруднення, клітинні культури піддаються щоденному візуальному контролю.