

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 В4. 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 (номер за каталогом 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/cm²

Fluid renewal 2-3 рази на тиждень

Freeze medium Як середовище криоконсервування 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 криоіндукованого 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 $300 \times g$ 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. Дотримуйтеся встановлених протоколів субкультивування для продовження росту і підтримання клітинної лінії, забезпечуючи надійні результати експерименту.

**Incubation
Atmosphere**

37°C , 5% CO_2 , волога атмосфера.

Flask Coating

Ні

**Freezing
Procedure**

Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевірній 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 перевірених ізольованих 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.

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 / Генетичний профіль / HLA

Sterility

Зараження мікоплазмою виключається за допомогою аналізів на основі ПЛР та люмінесцентних методів виявлення мікоплазми.

Щоб переконатися у відсутності бактеріального, грибового або дріжджового забруднення, клітинні культури піддаються щоденному візуальному контролю.