Product sheet

Tế bào LLC-MK2 (Phiên bản gốc) | 305149

Thông tin chung

Description	LLC-MK2 là dòng tế bào biểu mô liên tục được thiết lập từ mô thận của khỉ rhesus trưởng thành (*Macaca mulatta*). Dòng tế bào này ban đầu được phân lập vào những năm 1950 thông qua quá trình tiêu hóa bằng trypsin của mô thận được thu thập từ sáu con khỉ rhesus. Tế bào LLC-MK2 có đặc tính phát triển bám dính và đã được sử dụng rộng rãi trong virology do tính nhạy cảm cao với nhiều loại virus, bao gồm virus viêm dạ dày ruột bò 1, virus polio người 1 và virus coxsackie B4 ở người. Nguồn gốc của dòng tế bào và tính nhạy cảm với virus khiến nó trở thành mô hình lý tưởng để nghiên cứu quá trình nhân lên của virus và tác động cytopathogenic. Dòng tế bào LLC-MK2 nổi tiếng với khả năng được nuôi cấy trong môi trường hóa học định nghĩa, không chứa huyết thanh, cho phép điều kiện thí nghiệm được kiểm soát. Nghiên cứu đã chỉ ra rằng các tế bào này có thể thích nghi với điều kiện không chứa huyết thanh mà không ảnh hưởng đến sự phát triển, mặc dù các văn hóa ban đầu được duy trì trong môi trường chứa lượng lớn huyết thanh ngựa. Việc thích nghi với môi trường nuôi cấy được định nghĩa hóa học đặc biệt có lợi cho các nghiên cứu vi rút học, vì nó giảm thiểu sự biến đổi do huyết thanh gây ra và hỗ trợ việc duy trì dòng tế bào lâu dài. Hơn nữa, dòng LLC-MK2 đã được chứng minh là duy trì độ nhạy cảm với vi rút tương đương với tế bào thận khỉ nguyên phát, khiến nó trở thành công cụ đáng tin cậy cho các nghiên cứu định lượng vi rút và sản xuất vắc-xin. Ngoài vai trò trong vi sinh học, LLC-MK2 cũng đã được nghiên cứu về tiềm năng gây ung thư. Mặc dù nó có một số đặc điểm biến đổi, như khả năng phát triển trong agar mềm, nó không hình thành khối u trong các mô hình in vivo, cho thấy nguy cơ gây ung thư hạn chế. Đặc điểm này càng nhấn mạnh tính hữu ích của nó như một dòng tế bào mô hình cho các nghiên cứu in vitro, đồng thời xác nhận sự không phù hợp của nó cho các ứng dụng điều trị hoặc in vivo.
Organism	Khỉ Rhesus
Tissue	Thận
Synonyms	Llc-Mk2, LLC-MK-2, LLC-MK2 Bản gốc, LLCMK2, LLcMK2, Lilly Laboratories Vật liệu nuôi cấy - Thận khỉ 2

Đặc điểm

Age	Người lớn
Morphology	Thượng bì
Growth properties	Người tuân thủ

Dữ liệu quy định

Citation	LLC-MK2 (Số catalog Cytion 305149)

Tế bào LLC-MK2 (Phiên bản gốc) | 305149

Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9544
CellosaurusAccession	CVCL_3009

Dữ liệu sinh học phân tử

Protein expression	Chất hoạt hóa plasminogen

Xử lý

Culture Medium	Phương tiện 199, chứa: 2,7 mM glutamine ổn định, chứa: 2,2 g/L $NaHCO_3$, chứa: EBSS (Số hiệu sản phẩm Cytion 820101a)
Supplements	Bổ sung 1% huyết thanh ngựa vào môi trường nuôi cấy
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Loại bỏ môi trường nuôi cấy cũ khỏi các tế bào bám dính và rửa chúng bằng PBS không chứa canxi và magiê. Đối với bình T25, sử dụng 3-5 ml PBS, và đối với bình T75, sử dụng 5-10 ml. Sau đó, phủ hoàn toàn các tế bào bằng Accutase, sử dụng 1-2 ml cho bình T25 và 2,5 ml cho bình T75. Để tế bào ủ ở nhiệt độ phòng trong 8-10 phút để tách chúng ra. Sau khi ủ, nhẹ nhàng trộn tế bào với 10 ml môi trường để tái phân tán chúng, sau đó ly tâm ở 300xg trong 3 phút. Loại bỏ dịch trên, tái phân tán tế bào trong môi trường tươi và chuyển chúng vào các bình mới đã chứa môi trường tươi.
Seeding density	4×10^4 tế bào/cm^2
Fluid renewal	2 đến 3 lần mỗi tuần
Freeze medium	Như một môi trường bảo quản đông lạnh, chúng tôi sử dụng môi trường tăng trưởng hoàn chỉnh (bao gồm FBS) + 10% DMSO để đảm bảo độ sống sau khi rã đông, hoặc CM-1 (mã sản phẩm Cytion 800100), bao gồm các chất bảo vệ thẩm thấu và chất ổn định chuyển hóa được tối ưu hóa để nâng cao khả năng phục hồi và giảm stress do đông lạnh gây ra.

Tế bào LLC-MK2 (Phiên bản gốc) | 305149

Thawing and Culturing Cells

1. Xác nhận rằng ống nghiệm vẫn được đông lạnh sâu khi giao hàng, vì tế bào được vận chuyển trên đá khô để duy trì nhiệt độ tối ưu trong quá trình vận chuyển.

2. Khi nhận hàng, hãy bảo quản ống nghiệm đông lạnh ngay lập tức ở nhiệt độ dưới -150°C để đảm bảo tính toàn vẹn của tế bào, hoặc tiến hành bước 3 nếu cần nuôi cấy ngay lập tức.

3. Để nuôi cấy ngay lập tức, hãy rã đông ống nghiệm nhanh chóng bằng cách ngâm nó trong bồn nước 37°C với nước sạch và chất kháng khuẩn, khuấy nhẹ trong 40-60 giây cho đến khi còn lại một khối băng nhỏ.

4. Thực hiện tất cả các bước tiếp theo trong điều kiện vô trùng trong tủ hút khí, khử trùng ống cryovial bằng cồn 70% trước khi mở.

5. Mở ống đã khử trùng một cách cẩn thận và chuyển hỗn hợp tế bào vào ống ly tâm 15 ml chứa 8 ml môi trường nuôi cấy ở nhiệt độ phòng, khuấy nhẹ.

6. Ly tâm hỗn hợp ở 300 x g trong 3 phút để tách tế bào và cẩn thận loại bỏ dịch siêu âm chứa môi trường đông lạnh còn lại.

7. Nhẹ nhàng hòa tan lại khối tế bào trong 10 ml môi trường nuôi cấy tươi. Đối với tế bào bám dính, chia hỗn hợp vào hai bình nuôi cấy T25; đối với tế bào nuôi cấy lơ lửng, chuyển toàn bộ môi trường vào một bình T25 để thúc đẩy tương tác và phát triển tế bào hiệu quả.

8. Tuân thủ các quy trình nuôi cấy con được thiết lập để duy trì sự phát triển và bảo quản dòng tế bào, đảm bảo kết quả thí nghiệm đáng tin cậy.

Incubation Atmosphere

37°C, 5%$_{CO_2}$, môi trường ẩm.

Flask Coating

Để đạt được độ bám dính và khả năng sống sót tối ưu sau khi rã đông, chúng tôi khuyến nghị sử dụng **các ống nghiệm hoặc đĩa được phủ collagen**.

Freezing Procedure

Các dòng tế bào được bảo quản bằng phương pháp đông lạnh được vận chuyển trên đá khô trong bao bì cách nhiệt đã được kiểm định, kèm theo lượng chất làm lạnh đủ để duy trì nhiệt độ khoảng −78 °C trong suốt quá trình vận chuyển. Khi nhận hàng, hãy kiểm tra ngay lập tức bao bì và chuyển các ống nghiệm sang nơi lưu trữ phù hợp mà không chậm trễ.

Tế bào LLC-MK2 (Phiên bản gốc) | 305149

Shipping Conditions	Các dòng tế bào được bảo quản bằng phương pháp đông lạnh được vận chuyển trên đá khô trong bao bì cách nhiệt đã được kiểm định, kèm theo lượng chất làm lạnh đủ để duy trì nhiệt độ khoảng −78 °C trong suốt quá trình vận chuyển. Khi nhận hàng, hãy kiểm tra ngay lập tức bao bì và chuyển các ống nghiệm sang nơi lưu trữ phù hợp mà không chậm trễ.
Storage Conditions	Để bảo quản lâu dài, hãy đặt ống nghiệm vào nitơ lỏng ở pha hơi ở nhiệt độ khoảng −150 đến −196 °C. Việc bảo quản ở −80 °C chỉ được chấp nhận như một bước trung gian ngắn hạn trước khi chuyển sang nitơ lỏng.

Kiểm soát chất lượng / Hồ sơ di truyền / HLA

Sterility	Sự nhiễm khuẩn Mycoplasma được loại trừ bằng cả các phương pháp xét nghiệm dựa trên PCR và các phương pháp phát hiện Mycoplasma dựa trên phát quang. Để đảm bảo không có nhiễm khuẩn vi khuẩn, nấm hoặc men, các mẫu nuôi cấy tế bào được kiểm tra trực quan hàng ngày.