

LLC-MK2 (originale) celler | 305149

Generel information

Description

LLC-MK2 er en kontinuerlig epitelcellelinje, der er etableret fra nyrevæv fra voksne rhesusaber (*Macaca mulatta*). Denne cellelinje blev oprindeligt isoleret i 1950'erne gennem trypsinisering af samlet nyrevæv fra seks rhesusaber. LLC-MK2-celler har vedhængende vækstkarakteristika og er blevet brugt i vid udstrækning inden for virologi på grund af deres høje følsomhed over for forskellige vira, herunder bovin viral diarrévirus 1, human poliovirus 1 og human coxsackievirus B4. Cellelinjens oprindelse og virusmodtagelighed gør den til en ideel model til undersøgelse af virusreplikation og cytopatogene effekter.

LLC-MK2-cellelinjen er kendt for sin evne til at blive dyrket i kemisk definerede, serumfri medier, hvilket giver mulighed for kontrollerede forsøgsbetingelser. Forskning har vist, at disse celler kan tilpasses til serumfrie forhold uden at kompromittere væksten, selvom de første kulturer blev vedligeholdt i medier, der indeholdt betydelige mængder hesteserum. Tilpasningen til kemisk definerede medier er særlig fordelagtig for virologiske undersøgelser, da det minimerer den variation, der introduceres af serum, og understøtter langsigtet vedligeholdelse af cellelinjen. Desuden har LLC-MK2-linjen vist sig at opretholde en virusfølsomhed, der kan sammenlignes med primære abenyreceller, hvilket gør den til et pålideligt værktøj til undersøgelser af viral titrering og vaccineproduktion.

Ud over sin rolle i virologi er LLC-MK2 også blevet undersøgt for sit tumorgeniske potentiale. Selvom den udviser visse transformerede egenskaber, såsom evnen til at vokse i blød agar, danner den ikke tumorer i in vivo-modeller, hvilket tyder på en begrænset tumorgenisk risiko. Denne egenskab understreger yderligere dens anvendelighed som modelcellelinje til in vitro-studier, samtidig med at den bekræfter dens uegnethed til terapeutiske eller in vivo-anvendelser.

Organism

Rhesus makak

Tissue

Nyre

Synonyms

Llc-Mk2, LLC-MK-2, LLC-MK2 Original, LLCMK2, LLcMK2, Lilly Laboratories Culture-Monkey Kidney 2

Karakteristika

Age

Voksen

Morphology

Epitelial

Growth properties

Vedhæftende

Regulatoriske data

Citation

LLC-MK2 (Cytion katalognummer 305149)

LLC-MK2 (originale) celler | 305149

Biosafety level 1**NCBI_TaxID** 9544**CellosaurusAccession** CVCL_3009**Biomolekylære data****Protein expression** Plasminogen-aktivator**Håndtering****Culture Medium** Medium 199, w: 2,7 mM stabil glutamin, w: 2,2 g/L NaHCO₃, w: EBSS (Cytion artikelnummer 820101a)**Supplements** Suppler mediet med 1% hesteserum**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Fjern det gamle medium fra de klæbende celler, og vask dem med PBS, der ikke indeholder calcium og magnesium. Brug 3-5 ml PBS til T25-kolber og 5-10 ml til T75-kolber. Dæk derefter cellerne helt med Accutase, brug 1-2 ml til T25-kolber og 2,5 ml til T75-kolber. Lad cellerne inkubere ved stuetemperatur i 8-10 minutter for at løsne dem. Efter inkubationen blandes cellerne forsigtigt med 10 ml medium for at resuspendere dem, og centrifugeres derefter ved 300xg i 3 minutter. Kassér supernatanten, resuspend cellerne i frisk medium, og overfør dem til nye kolber, der allerede indeholder frisk medium.**Seeding density** 4×10^4 celler/cm²**Fluid renewal** 2 til 3 gange om ugen**Freeze medium** Som kryopræservationsmedium bruger vi komplet vækstmedium (inklusive FBS) + 10 % DMSO for tilstrækkelig levedygtighed efter optøning eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som indeholder optimerede osmoreskyttende stoffer og metaboliske stabilisatorer for at forbedre genopretningen og reducere kryo-induceret stress.

LLC-MK2 (originale) celler | 305149

Thawing and Culturing Cells

1. Bekræft, at hætteglasset forbliver dybfrosset ved levering, da cellerne sendes på tøris for at opretholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved modtagelsen skal du enten straks opbevare kryohætteglasset ved temperaturer under $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ for at sikre, at cellernes integritet bevares, eller gå videre til trin 3, hvis øjeblikkelig dyrkning er påkrævet.
3. Ved øjeblikkelig dyrkning optøs hætteglasset hurtigt ved at nedsænke det i et $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ varmt vandbad med rent vand og et antimikrobielt middel og røre forsigtigt i 40-60 sekunder, indtil der kun er en lille isklump tilbage.
4. Udfør alle efterfølgende trin under sterile forhold i en flowhætte, og desinficer kryovialet med 70 % ethanol, før det åbnes.
5. Åbn forsigtigt det desinficerede hætteglas, og overfør cellesuspensionen til et 15 ml centrifugerør, der indeholder 8 ml kulturmedium ved stuetemperatur, og bland forsigtigt.
6. Centrifuger blandingen ved $300 \times g$ i 3 minutter for at adskille cellerne, og kassér omhyggeligt supernatanten, der indeholder resterende frysemedium.
7. Resuspender forsigtigt cellepelleten i 10 ml frisk dyrkningsmedium. For klæbende celler deles suspensionen mellem to T25-kulturkolber; for suspensionskulturer overføres alt mediet til en T25-kolbe for at fremme effektiv celleinteraktion og -vækst.
8. Overhold etablerede subkulturprotokoller for fortsat vækst og vedligeholdelse af cellelinjen, hvilket sikrer pålidelige eksperimentelle resultater.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , befugtet atmosfære.

Flask Coating

Ingen

Freezing Procedure

Kryopræservede cellelinjer sendes på tøris i valideret, isoleret emballage med tilstrækkeligt kølemiddel til at opretholde ca. $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hele transporten. Ved modtagelse skal beholderen straks inspiceres, og hætteglassene skal straks overføres til passende opbevaring.

Shipping Conditions

Kryopræservede cellelinjer sendes på tøris i valideret, isoleret emballage med tilstrækkeligt kølemiddel til at opretholde ca. $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hele transporten. Ved modtagelse skal beholderen straks inspiceres, og hætteglassene skal straks overføres til passende opbevaring.

LLC-MK2 (originale) celler | 305149

Storage Conditions

For langtidsopbevaring anbringes hætteglas i flydende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Opbevaring ved -80 °C er kun acceptabelt som et kort mellemtrin før overførsel til flydende nitrogen.

Kvalitetskontrol / Genetisk profil / HLA

Sterility

Mycoplasma-kontaminering udelukkes ved hjælp af både PCR-baserede assays og luminescensbaserede mycoplasma-detektionsmetoder.

For at sikre, at der ikke er nogen bakterie-, svampe- eller gærforurening, underkastes cellekulturerne daglige visuelle inspektioner.