Product sheet

LLC-MK2 (Original)-Zellen | 305149

Allgemeine Informationen

Description	LLC-MK2 ist eine kontinuierliche Epithelzelllinie, die aus dem Nierengewebe erwachsener Rhesusaffen (*Macaca mulatta*) gewonnen wird. Diese Zelllinie wurde ursprünglich in den 1950er Jahren durch die Trypsinierung von gepooltem Nierengewebe von sechs Rhesusaffen isoliert. LLC-MK2-Zellen weisen adhärente Wachstumseigenschaften auf und wurden aufgrund ihrer hohen Empfindlichkeit gegenüber verschiedenen Viren, einschließlich des Bovinen Virusdiarrhöe-Virus 1, des Humanen Poliovirus 1 und des Humanen Coxsackievirus B4, in der Virologie häufig verwendet. Die Herkunft der Zelllinie und ihre Virusanfälligkeit machen sie zu einem idealen Modell für die Untersuchung der viralen Replikation und der zytopathogenen Auswirkungen. Die LLC-MK2-Zelllinie ist dafür bekannt, dass sie in chemisch definierten, serumfreien Medien kultiviert werden kann, was kontrollierte Versuchsbedingungen ermöglicht. Die Forschung hat gezeigt, dass diese Zellen an serumfreie Bedingungen angepasst werden können, ohne das Wachstum zu beeinträchtigen, obwohl die ersten Kulturen in Medien gehalten wurden, die erhebliche Mengen an Pferdeserum enthielten. Die Anpassung an chemisch definierte Medien ist besonders für virologische Studien von Vorteil, da sie die durch Serum verursachte Variabilität minimiert und die langfristige Aufrechterhaltung der Zelllinie unterstützt. Darüber hinaus hat sich gezeigt, dass die LLC-MK2-Linie eine Virusempfindlichkeit aufweist, die mit der von primären Affennierenzellen vergleichbar ist, was sie zu einem zuverlässigen Instrument für Studien zur Virustitration und Impfstoffherstellung macht. Zusätzlich zu ihrer Rolle in der Virologie wurde LLC-MK2 auch auf ihr tumorigenes Potenzial hin untersucht. Obwohl es bestimmte transformierte Eigenschaften aufweist, wie z. B. die Fähigkeit, in weichem Agar zu wachsen, bildet es in In-vivo-Modellen keine Tumore, was auf ein begrenztes tumorigenes Risiko schließen lässt. Diese Eigenschaft unterstreicht ihre Nützlichkeit als Modellzelllinie für In-vitro-Untersuchungen, bestätigt aber gleichzeitig, dass sie für therapeutische oder In-vivo-Anwendungen nicht geeignet ist.
Organism	Rhesusaffen
Tissue	Niere
Synonyms	Llc-Mk2, LLC-MK-2, LLC-MK2 Original, LLCMK2, LLcMK2, Lilly Laboratories Culture-Monkey Kidney 2

Merkmale

Age	Erwachsener
Morphology	Epithelial
Growth properties	Adhärent

Regulatorische Daten

Product sheet

LLC-MK2 (Original)-Zellen | 305149

Citation	LLC-MK2 (Cytion-Katalognummer 305149)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9544
CellosaurusAccession	CVCL_3009

Biomolekulare Daten

Protein expression	Plasminogen-Aktivator

Handhabung

Culture Medium	Medium 199, w: 2,7 mM stabiles Glutamin, w: 2,2 g/L NaHCO3, w: EBSS (Cytion-Artikelnummer 820101a)
Supplements	Ergänzen Sie das Medium mit 1% Pferdeserum
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Entfernen Sie das alte Medium von den adhärenten Zellen und waschen Sie sie mit PBS, das kein Kalzium und Magnesium enthält. Für T25-Kolben 3-5 ml PBS und für T75-Kolben 5-10 ml verwenden. Anschließend werden die Zellen vollständig mit Accutase bedeckt, wobei 1-2 ml für T25-Kolben und 2,5 ml für T75-Kolben verwendet werden. Lassen Sie die Zellen 8-10 Minuten bei Raumtemperatur inkubieren, um sie abzulösen. Nach der Inkubation mischen Sie die Zellen vorsichtig mit 10 ml Medium, um sie zu resuspendieren, und zentrifugieren sie dann 3 Minuten lang bei 300xg. Den Überstand verwerfen, die Zellen in frischem Medium resuspendieren und in neue Kolben überführen, die bereits frisches Medium enthalten.
Split ratio	1: 3 bis 1: 4
Seeding density	4 x 10^4 Zellen/cm²
Fluid renewal	2 bis 3 Mal pro Woche
Freeze medium	Als Kryokonservierungsmedium verwenden wir komplettes Wachstumsmedium (einschließlich FBS) + 10 % DMSO für eine angemessene Lebensfähigkeit nach dem Auftauen oder CM-1 (Cytion Katalognummer 800100), das optimierte Osmoprotektoren und Stoffwechselstabilisatoren enthält, um die Erholung zu verbessern und kryoinduzierten Stress zu reduzieren.

LLC-MK2 (Original)-Zellen | 305149

Thawing and Culturing Cells	1. Vergewissern Sie sich, dass das Fläschchen bei der Lieferung tiefgefroren ist, da die Zellen auf Trockeneis versandt werden, um während des Transports optimale Temperaturen zu erhalten. 2. Lagern Sie das Kryofläschchen nach Erhalt entweder sofort bei Temperaturen unter -150 °C, um die Unversehrtheit der Zellen zu gewährleisten, oder fahren Sie mit Schritt 3 fort, wenn eine sofortige Kultivierung erforderlich ist. 3. Für eine sofortige Kultivierung tauen Sie das Fläschchen schnell auf, indem Sie es in ein 37°C warmes Wasserbad mit sauberem Wasser und einem antimikrobiellen Mittel eintauchen und 40-60 Sekunden lang vorsichtig schütteln, bis ein kleiner Eisklumpen zurückbleibt. 4. Führen Sie alle weiteren Schritte unter sterilen Bedingungen in einer Abzugshaube durch und desinfizieren Sie das Kryo-Fläschchen vor dem Öffnen mit 70%igem Ethanol. 5. Das desinfizierte Fläschchen vorsichtig öffnen und die Zellsuspension unter vorsichtigem Mischen in ein 15-ml-Zentrifugenröhrchen mit 8 ml Kulturmedium bei Raumtemperatur überführen. 6. Zentrifugieren Sie das Gemisch 3 Minuten lang bei 300 x g, um die Zellen abzutrennen, und verwerfen Sie den Überstand mit dem restlichen Gefriermedium vorsichtig. 7. Das Zellpellet vorsichtig in 10 ml frischem Kulturmedium resuspendieren. Bei adhärenten Zellen die Suspension auf zwei T25-Kulturflaschen aufteilen; bei Suspensionskulturen das gesamte Medium in eine T25-Flasche überführen, um eine effektive Zellinteraktion und ein effektives Wachstum zu fördern. 8. Halten Sie sich an die festgelegten Subkulturprotokolle, um ein kontinuierliches Wachstum und die Aufrechterhaltung der Zelllinie zu gewährleisten und zuverlässige Versuchsergebnisse zu erzielen.
Incubation Atmosphere	37°C, 5%$_{CO2}$, befeuchtete Atmosphäre.
Flask Coating	Keine
Freezing Procedure	Kryokonservierte Zelllinien werden auf Trockeneis in einer validierten, isolierten Verpackung mit ausreichend Kühlmittel versandt, um während des gesamten Transports eine Temperatur von etwa -78 °C aufrechtzuerhalten. Prüfen Sie den Behälter bei Erhalt sofort und bringen Sie die Fläschchen unverzüglich in ein geeignetes Lager.

LLC-MK2 (Original)-Zellen | 305149

Shipping Conditions	Kryokonservierte Zelllinien werden auf Trockeneis in einer validierten, isolierten Verpackung mit ausreichend Kühlmittel versandt, um während des gesamten Transports eine Temperatur von etwa -78 °C aufrechtzuerhalten. Prüfen Sie den Behälter bei Erhalt sofort und bringen Sie die Fläschchen unverzüglich in ein geeignetes Lager.
Storage Conditions	Zur Langzeitkonservierung werden die Fläschchen in flüssigem Stickstoff bei etwa -150 bis -196 °C gelagert. Eine Lagerung bei -80 °C ist nur als kurzer Zwischenschritt vor der Überführung in flüssigen Stickstoff akzeptabel.

Qualitätskontrolle und molekulare Analyse

Sterility	Eine Kontamination mit Mykoplasmen wird sowohl durch PCR-basierte Assays als auch durch lumineszenzbasierte Mykoplasmen-Nachweisverfahren ausgeschlossen. Um sicherzustellen, dass keine Kontamination mit Bakterien, Pilzen oder Hefen vorliegt, werden die Zellkulturen täglich visuell überprüft.