

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 adhärenente 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 Adhärenent

Regulatorische Daten

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 adhären 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 4×10^4 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 $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, 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 $300 \times g$, um die Zellen abzutrennen, und werfen Sie den Überstand mit dem restlichen Gefriermedium vorsichtig.
7. Das Zellpellet vorsichtig in 10 ml frischem Kulturmedium resuspendieren. Bei adhärenenten 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% CO_2 , 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 $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ 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 / Genetisches Profil / HLA

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.