

Células LLC-MK2 (Original) | 305149

Información general

Description

LLC-MK2 es una línea celular epitelial continua establecida a partir del tejido renal de monos rhesus adultos (*Macaca mulatta*). Esta línea celular se aisló originalmente en la década de 1950 mediante la tripsinización de un conjunto de tejido renal de seis monos rhesus. Las células LLC-MK2 presentan características de crecimiento adherente y se han utilizado ampliamente en virología debido a su alta susceptibilidad a diversos virus, como el virus de la diarrea vírica bovina 1, el poliovirus humano 1 y el coxsackievirus humano B4. El origen de la línea celular y su susceptibilidad a los virus la convierten en un modelo ideal para estudiar la replicación viral y los efectos citopatógenos.

La línea celular LLC-MK2 es conocida por su capacidad de cultivo en medios químicamente definidos y libres de suero, lo que permite controlar las condiciones experimentales. La investigación ha demostrado que estas células pueden adaptarse a condiciones libres de suero sin comprometer el crecimiento, aunque los cultivos iniciales se mantuvieron en medios que contenían cantidades significativas de suero de caballo. La adaptación a medios químicamente definidos es especialmente ventajosa para los estudios virológicos, ya que minimiza la variabilidad introducida por el suero y favorece el mantenimiento a largo plazo de la línea celular. Además, se ha demostrado que la línea LLC-MK2 mantiene una sensibilidad al virus comparable a la de las células primarias de riñón de mono, lo que la convierte en una herramienta fiable para estudios de titulación viral y producción de vacunas.

Además de su papel en virología, LLC-MK2 también ha sido investigada por su potencial tumorigénico. Aunque presenta ciertas características de transformación, como la capacidad de crecer en agar blando, no forma tumores en modelos in vivo, lo que sugiere un riesgo tumorigénico limitado. Esta característica subraya aún más su utilidad como línea celular modelo para estudios in vitro, al tiempo que confirma su inadecuación para aplicaciones terapéuticas o in vivo.

Organism

Macaco Rhesus

Tissue

Riñón

Synonyms

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

Características

Age

Adultos

Morphology

Epitelial

Growth properties

Adherente

Datos reglamentarios

Citation

LLC-MK2 (número de catálogo 305149 de Cytion)

Células LLC-MK2 (Original) | 305149**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9544**CellosaurusAccession** CVCL_3009**Datos biomoleculares****Protein expression** Activador del plasminógeno**Manejo de****Culture Medium** Medio 199, w: 2,7 mM Glutamina estable, w: 2,2 g/L NaHCO₃, w: EBSS (número de artículo de Cytion 820101a)**Supplements** Complementar el medio con 1% de suero de caballo**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Retire el medio antiguo de las células adheridas y lávelas con PBS que carezca de calcio y magnesio. Para matraces T25, utilice 3-5 ml de PBS, y para matraces T75, utilice 5-10 ml. A continuación, cubra completamente las células con Accutase, utilizando 1-2 ml para matraces T25 y 2,5 ml para matraces T75. Deje incubar las células a temperatura ambiente durante 8-10 minutos para desprenderlas. Tras la incubación, mezclar suavemente las células con 10 ml de medio para resuspenderlas y, a continuación, centrifugar a 300xg durante 3 minutos. Desechar el sobrenadante, resuspender las células en medio fresco y transferirlas a nuevos matraces que ya contengan medio fresco.**Split ratio** 1:3 a 1:4**Seeding density** 4 x 10⁴ células/cm²**Fluid renewal** de 2 a 3 veces por semana**Freeze medium** Como medio de criopreservación, utilizamos el medio de crecimiento completo (incluido FBS) + 10% DMSO para una viabilidad adecuada tras la descongelación, o CM-1 (número de catálogo 800100 de Cytion), que incluye osmoprotectores optimizados y estabilizadores metabólicos para mejorar la recuperación y reducir el estrés crioinducido.

Células LLC-MK2 (Original) | 305149

Thawing and Culturing Cells

1. Confirme que el vial permanece profundamente congelado en el momento de la entrega, ya que las células se envían en hielo seco para mantener temperaturas óptimas durante el transporte.
2. Tras la recepción, almacene el criovial inmediatamente a temperaturas inferiores a -150°C para garantizar la conservación de la integridad celular, o proceda al paso 3 si se requiere el cultivo inmediato.
3. Para el cultivo inmediato, descongele rápidamente el vial sumergiéndolo en un baño de agua a 37°C con agua limpia y un agente antimicrobiano, agitando suavemente durante 40-60 segundos hasta que quede un pequeño grumo de hielo.
4. Realice todos los pasos siguientes en condiciones estériles en una campana de flujo, desinfectando el criovial con etanol al 70% antes de abrirlo.
5. Abrir con cuidado el vial desinfectado y transferir la suspensión celular a un tubo de centrifuga de 15 ml que contenga 8 ml de medio de cultivo a temperatura ambiente, mezclando suavemente.
6. Centrifugar la mezcla a 300 x g durante 3 minutos para separar las células y desechar cuidadosamente el sobrenadante que contiene medio de congelación residual.
7. Resuspender suavemente el sedimento celular en 10 ml de medio de cultivo fresco. Para las células adherentes, dividir la suspensión entre dos matraces de cultivo T25; para los cultivos en suspensión, transferir todo el medio a un matraz T25 para promover la interacción y el crecimiento celular efectivos.
8. Siga los protocolos de subcultivo establecidos para el crecimiento y mantenimiento continuos de la línea celular, garantizando resultados experimentales fiables.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO₂, atmósfera humidificada.

Flask Coating

Ninguno

Freezing Procedure

Las líneas celulares crioconservadas se envían en hielo seco en envases validados y aislados con suficiente refrigerante para mantener aproximadamente -78 °C durante el tránsito. A la recepción, inspeccione el envase inmediatamente y transfiera los viales sin demora al almacenamiento adecuado.

Shipping Conditions

Las líneas celulares crioconservadas se envían en hielo seco en envases validados y aislados con suficiente refrigerante para mantener aproximadamente -78 °C durante el tránsito. A la recepción, inspeccione el envase inmediatamente y transfiera los viales sin demora al almacenamiento adecuado.

Células LLC-MK2 (Original) | 305149

Storage Conditions

Para la conservación a largo plazo, coloque los viales en nitrógeno líquido en fase vapor a una temperatura aproximada de -150 a -196 °C. El almacenamiento a -80 °C sólo es aceptable como breve paso intermedio antes de la transferencia al nitrógeno líquido.

Control de calidad / Perfil genético / HLA

Sterility

La contaminación por micoplasma se excluye utilizando tanto ensayos basados en la PCR como métodos de detección de micoplasma basados en la luminiscencia.

Para garantizar la ausencia de contaminación bacteriana, fúngica o por levaduras, los cultivos celulares se someten a inspecciones visuales diarias.