Product sheet

Cellules LLC-MK2 (originales) | 305149

Informations générales

Description	LLC-MK2 est une lignée cellulaire épithéliale continue établie à partir du tissu rénal de singes rhésus adultes (*Macaca mulatta*). Cette lignée cellulaire a été isolée à l'origine dans les années 1950 par trypsinisation du tissu rénal de six singes rhésus. Les cellules LLC-MK2 présentent des caractéristiques de croissance adhérente et ont été largement utilisées en virologie en raison de leur grande sensibilité à divers virus, notamment le virus de la diarrhée virale bovine 1, le poliovirus humain 1 et le coxsackievirus humain B4. L'origine de la lignée cellulaire et sa sensibilité aux virus en font un modèle idéal pour l'étude de la réplication virale et des effets cytopathogènes. La lignée cellulaire LLC-MK2 est connue pour sa capacité à être cultivée dans des milieux chimiquement définis et sans sérum, ce qui permet de contrôler les conditions expérimentales. La recherche a démontré que ces cellules peuvent être adaptées à des conditions sans sérum sans compromettre la croissance, bien que les cultures initiales aient été maintenues dans des milieux contenant des quantités significatives de sérum de cheval. L'adaptation à des milieux chimiquement définis est particulièrement avantageuse pour les études virologiques, car elle minimise la variabilité introduite par le sérum et permet le maintien à long terme de la lignée cellulaire. En outre, il a été démontré que la lignée LLC-MK2 conservait une sensibilité aux virus comparable à celle des cellules primaires de rein de singe, ce qui en fait un outil fiable pour les études de titrage viral et de production de vaccins. Outre son rôle en virologie, la lignée LLC-MK2 a également été étudiée pour son potentiel tumorigène. Bien qu'elle présente certaines caractéristiques de transformation, telles que la capacité de se développer dans une gélose molle, elle ne forme pas de tumeurs dans les modèles in vivo, ce qui suggère un risque tumorigène limité. Cette caractéristique souligne son utilité en tant que lignée cellulaire modèle pour les études in vitro, tout en confirmant son inadéquation pour les applications thérapeutiques ou in vivo.
Organism	Macaque rhésus
Tissue	Rein
Synonyms	Llc-Mk2, LLC-MK-2, LLC-MK2 Original, LLCMK2, LLcMK2, Lilly Laboratories Culture-Monkey Kidney 2

Caractéristiques

Age	Adulte
Morphology	Épithéliale
Growth properties	Adhérent

Données réglementaires

Citation	LLC-MK2 (numéro de catalogue Cytion 305149)

Cellules LLC-MK2 (originales) | 305149

Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9544
CellosaurusAccession	CVCL_3009

Données biomoléculaires

Protein expression	Activateur du plasminogène

Manipulation

Culture Medium	Milieu 199, w : 2.7 mM Glutamine stable, w : 2.2 g/L NaHCO3, w : EBSS (numéro d'article Cytion 820101a)
Supplements	Compléter le milieu avec 1% de sérum de cheval
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Retirer l'ancien milieu des cellules adhérentes et les laver avec du PBS dépourvu de calcium et de magnésium. Pour les flacons T25, utiliser 3-5 ml de PBS, et pour les flacons T75, 5-10 ml. Ensuite, recouvrir complètement les cellules avec Accutase, en utilisant 1 à 2 ml pour les flacons T25 et 2,5 ml pour les flacons T75. Laisser les cellules incuber à température ambiante pendant 8-10 minutes pour les détacher. Après incubation, mélanger délicatement les cellules avec 10 ml de milieu pour les remettre en suspension, puis centrifuger à 300xg pendant 3 minutes. Jeter le surnageant, remettre les cellules en suspension dans du milieu frais et les transférer dans de nouveaux flacons contenant déjà du milieu frais.
Split ratio	1 : 3 à 1 : 4
Seeding density	4 x 10^4 cellules/cm^2
Fluid renewal	2 à 3 fois par semaine
Freeze medium	Comme milieu de cryoconservation, nous utilisons un milieu de croissance complet (comprenant du FBS) + 10 % de DMSO pour une viabilité adéquate après décongélation, ou CM-1 (numéro de catalogue 800100 de Cytion), qui comprend des osmoprotectants et des stabilisateurs métaboliques optimisés pour améliorer la récupération et réduire le stress induit par la cryogénisation.

Cellules LLC-MK2 (originales) | 305149

Thawing and Culturing Cells

1. Confirmer que le flacon est toujours congelé à la livraison, car les cellules sont expédiées sur de la glace sèche pour maintenir des températures optimales pendant le transport.

2. Dès réception, soit conserver immédiatement le cryovial à des températures inférieures à -150°C pour assurer la préservation de l'intégrité cellulaire, soit passer à l'étape 3 si une mise en culture immédiate est nécessaire.

3. Pour une mise en culture immédiate, décongeler rapidement le flacon en l'immergeant dans un bain-marie à 37°C avec de l'eau propre et un agent antimicrobien, en l'agitant doucement pendant 40 à 60 secondes jusqu'à ce qu'il ne reste qu'un petit amas de glace.

4. Effectuer toutes les étapes suivantes dans des conditions stériles sous une hotte à flux, en désinfectant le cryovial avec de l'éthanol à 70 % avant de l'ouvrir.

5. Ouvrir soigneusement le flacon désinfecté et transférer la suspension cellulaire dans un tube à centrifuger de 15 ml contenant 8 ml de milieu de culture à température ambiante, en mélangeant doucement.

6. Centrifuger le mélange à 300 x g pendant 3 minutes pour séparer les cellules et jeter soigneusement le surnageant contenant le milieu de congélation résiduel.

7. Remettre doucement en suspension le culot cellulaire dans 10 ml de milieu de culture frais. Pour les cellules adhérentes, répartir la suspension entre deux flacons de culture T25 ; pour les cultures en suspension, transférer tout le milieu dans un seul flacon T25 afin de favoriser une interaction et une croissance efficaces des cellules.

8. Respecter les protocoles de sous-culture établis pour une croissance et un entretien continus de la lignée cellulaire, garantissant ainsi des résultats expérimentaux fiables.

Incubation Atmosphere

37°C, 5%$_{CO2}$, atmosphère humidifiée.

Flask Coating

Aucun

Freezing Procedure

Les lignées cellulaires cryoconservées sont expédiées sur glace sèche dans des emballages isolés et validés, avec suffisamment de réfrigérant pour maintenir une température d'environ -78 °C tout au long du transport. À la réception, inspecter immédiatement le conteneur et transférer sans délai les flacons dans un lieu de stockage approprié.

Cellules LLC-MK2 (originales) | 305149

Shipping Conditions	Les lignées cellulaires cryoconservées sont expédiées sur glace sèche dans des emballages isolés et validés, avec suffisamment de réfrigérant pour maintenir une température d'environ -78 °C tout au long du transport. À la réception, inspecter immédiatement le conteneur et transférer sans délai les flacons dans un lieu de stockage approprié.
Storage Conditions	Pour une conservation à long terme, placer les flacons dans de l'azote liquide en phase vapeur à une température comprise entre -150 et -196 °C environ. Le stockage à -80 °C n'est acceptable qu'en tant qu'étape intermédiaire de courte durée avant le transfert dans l'azote liquide.

Contrôle qualité et analyse moléculaire

Sterility	La contamination par les mycoplasmes est exclue à l'aide de tests basés sur la PCR et de méthodes de détection des mycoplasmes basées sur la luminescence. Pour s'assurer de l'absence de contamination bactérienne, fongique ou levurienne, les cultures cellulaires font l'objet d'inspections visuelles quotidiennes.