Product sheet

Cellule LLC-MK2 (originali) | 305149

Informazioni generali

Description	LLC-MK2 è una linea cellulare epiteliale continua ottenuta dal tessuto renale di scimmie rhesus adulte (*Macaca mulatta*). Questa linea cellulare è stata originariamente isolata negli anni '50 attraverso la tripsinizzazione del tessuto renale di sei scimmie rhesus. Le cellule LLC-MK2 presentano caratteristiche di crescita aderente e sono state ampiamente utilizzate in virologia grazie alla loro elevata suscettibilità a vari virus, tra cui il virus della diarrea virale bovina 1, il poliovirus umano 1 e il coxsackievirus umano B4. L'origine della linea cellulare e la sua suscettibilità ai virus la rendono un modello ideale per lo studio della replicazione virale e degli effetti citopatogeni. La linea cellulare LLC-MK2 è nota per la sua capacità di essere coltivata in terreni chimicamente definiti e privi di siero, che consentono condizioni sperimentali controllate. La ricerca ha dimostrato che queste cellule possono essere adattate a condizioni prive di siero senza compromettere la crescita, sebbene le colture iniziali siano state mantenute in terreni contenenti quantità significative di siero di cavallo. L'adattamento a terreni chimicamente definiti è particolarmente vantaggioso per gli studi virologici, in quanto riduce al minimo la variabilità introdotta dal siero e favorisce il mantenimento a lungo termine della linea cellulare. Inoltre, è stato dimostrato che la linea LLC-MK2 mantiene una sensibilità al virus paragonabile a quella delle cellule primarie del rene di scimmia, il che la rende uno strumento affidabile per gli studi di titolazione virale e di produzione di vaccini. Oltre al suo ruolo nella virologia, la LLC-MK2 è stata studiata anche per il suo potenziale tumorigenico. Sebbene presenti alcune caratteristiche di trasformazione, come la capacità di crescere in soft agar, non forma tumori in modelli in vivo, suggerendo un rischio tumorigenico limitato. Questa caratteristica sottolinea ulteriormente la sua utilità come linea cellulare modello per studi in vitro, pur confermando la sua inadeguatezza per applicazioni terapeutiche o in vivo.
Organism	Macaco Rhesus
Tissue	Rene
Synonyms	Llc-Mk2, LLC-MK-2, LLC-MK2 Original, LLCMK2, LLcMK2, Lilly Laboratories Culture-Monkey Kidney 2

Caratteristiche

Age	Adulti
Morphology	Epiteliale
Growth properties	Aderente

Dati normativi

Citation	LLC-MK2 (numero di catalogo Cytion 305149)

Cellule LLC-MK2 (originali) | 305149

Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9544
CellosaurusAccession	CVCL_3009

Dati biomolecolari

Protein expression	Attivatore del plasminogeno

Manipolazione

Culture Medium	Terreno 199, w: 2,7 mM di glutammina stabile, w: 2,2 g/L NaHCO3, w: EBSS (articolo Cytion numero 820101a)
Supplements	Integrare il terreno di coltura con l'1% di siero di cavallo
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Rimuovere il vecchio terreno dalle cellule aderenti e lavarle con PBS privo di calcio e magnesio. Per le fiasche T25, utilizzare 3-5 ml di PBS e per le fiasche T75, 5-10 ml. Quindi, coprire completamente le cellule con Accutase, utilizzando 1-2 ml per le fiasche T25 e 2,5 ml per le fiasche T75. Lasciare incubare le cellule a temperatura ambiente per 8-10 minuti per staccarle. Dopo l'incubazione, mescolare delicatamente le cellule con 10 ml di terreno per risospenderle, quindi centrifugare a 300xg per 3 minuti. Scartare il surnatante, risospendere le cellule in terreno fresco e trasferirle in nuove fiasche contenenti terreno fresco.
Split ratio	1: 3 a 1: 4
Seeding density	4 x 10^4 cellule/cm^2
Fluid renewal	da 2 a 3 volte alla settimana
Freeze medium	Come terreno di crioconservazione, utilizziamo un terreno di crescita completo (incluso FBS) + 10% DMSO per un'adeguata vitalità post-scongelamento, o CM-1 (numero di catalogo Cytion 800100), che include osmoprotettori e stabilizzatori metabolici ottimizzati per migliorare il recupero e ridurre lo stress crio-indotto.

Cellule LLC-MK2 (originali) | 305149

Thawing and Culturing Cells

1. Verificare che la fiala rimanga profondamente congelata al momento della consegna, poiché le cellule vengono spedite con ghiaccio secco per mantenere le temperature ottimali durante il trasporto.
2. Al ricevimento, conservare immediatamente la criovial a temperature inferiori a -150°C per garantire la conservazione dell'integrità cellulare, oppure procedere al punto 3 se è necessaria una coltura immediata.
3. Per la coltura immediata, scongelare rapidamente la fiala immergendola in un bagno d'acqua a 37°C con acqua pulita e un agente antimicrobico, agitando delicatamente per 40-60 secondi finché non rimane un piccolo grumo di ghiaccio.
4. Eseguire tutte le fasi successive in condizioni di sterilità in una cappa a flusso, disinfettando la criovial con etanolo al 70% prima dell'apertura.
5. Aprire con cautela la fiala disinfettata e trasferire la sospensione cellulare in una provetta da centrifuga da 15 ml contenente 8 ml di terreno di coltura a temperatura ambiente, mescolando delicatamente.
6. Centrifugare la miscela a 300 x g per 3 minuti per separare le cellule e scartare con cura il surnatante contenente il terreno di coltura residuo.
7. Risospendere delicatamente il pellet cellulare in 10 ml di terreno di coltura fresco. Per le cellule aderenti, dividere la sospensione tra due fiasche di coltura T25; per le colture in sospensione, trasferire tutto il terreno in una fiasca T25 per promuovere l'interazione e la crescita delle cellule.
8. Attenersi ai protocolli di subcoltura stabiliti per la crescita e il mantenimento continui della linea cellulare, garantendo risultati sperimentali affidabili.

Incubation Atmosphere

37°C, 5%$_{CO2}$, atmosfera umidificata.

Flask Coating

Nessuno

Freezing Procedure

Le linee cellulari crioconservate vengono spedite su ghiaccio secco in confezioni isolate e convalidate, con una quantità di refrigerante sufficiente a mantenere circa -78 °C durante il trasporto. Al ricevimento, ispezionare immediatamente il contenitore e trasferire immediatamente le fiale in un luogo di conservazione appropriato.

Shipping Conditions

Le linee cellulari crioconservate vengono spedite su ghiaccio secco in confezioni isolate e convalidate, con una quantità di refrigerante sufficiente a mantenere circa -78 °C durante il trasporto. Al ricevimento, ispezionare immediatamente il contenitore e trasferire immediatamente le fiale in un luogo di conservazione appropriato.

Storage Conditions	Per la conservazione a lungo termine, porre le fiale in azoto liquido in fase vapore a una temperatura compresa tra -150 e -196 °C circa. La conservazione a -80 °C è accettabile solo come breve fase intermedia prima del trasferimento in azoto liquido.

Controllo qualità e analisi molecolare

Sterility	La contaminazione da micoplasma viene esclusa utilizzando sia saggi basati sulla PCR sia metodi di rilevamento del micoplasma basati sulla luminescenza. Per garantire l'assenza di contaminazione batterica, fungina o da lieviti, le colture cellulari sono sottoposte a ispezioni visive quotidiane.