Product sheet

LLC-MK2 (origineel) Cellen | 305149

Algemene informatie

Description	LLC-MK2 is een continue epitheliale cellijn afkomstig uit het nierweefsel van volwassen resusaapjes (*Macaca mulatta*). Deze cellijn werd oorspronkelijk geïsoleerd in de jaren 1950 door trypsinisatie van samengevoegd nierweefsel van zes resusapen. LLC-MK2-cellen vertonen adherente groeikenmerken en zijn uitgebreid gebruikt in de virologie vanwege hun hoge gevoeligheid voor verschillende virussen, waaronder boviene virusdiarree virus 1, humaan poliovirus 1 en humaan coxsackievirus B4. De oorsprong en virusgevoeligheid van de cellijn maken het een ideaal model voor het bestuderen van virale replicatie en cytopathogene effecten. De LLC-MK2 cellijn staat bekend om zijn vermogen om gekweekt te worden in chemisch gedefinieerde, serumvrije media, wat gecontroleerde experimentele omstandigheden mogelijk maakt. Onderzoek heeft aangetoond dat deze cellen kunnen worden aangepast aan serumvrije omstandigheden zonder dat dit ten koste gaat van de groei, hoewel initiële culturen werden onderhouden in media die aanzienlijke hoeveelheden paardenserum bevatten. De aanpassing aan chemisch gedefinieerde media is met name voordelig voor virologische studies, omdat het de variabiliteit door serum minimaliseert en het onderhoud van de cellijn op lange termijn ondersteunt. Bovendien is aangetoond dat de LLC-MK2 lijn een virusgevoeligheid heeft die vergelijkbaar is met die van primaire apenniercellen, waardoor het een betrouwbaar instrument is voor virale titratie en vaccinproductiestudies. Naast zijn rol in de virologie is LLC-MK2 ook onderzocht op zijn tumorigene potentieel. Hoewel het bepaalde getransformeerde eigenschappen vertoont, zoals het vermogen om te groeien in zachte agar, vormt het geen tumoren in in vivo modellen, wat duidt op een beperkt tumorigene risico. Dit kenmerk onderstreept nog eens zijn nut als modelcellijn voor in vitro studies, terwijl het bevestigt dat het ongeschikt is voor therapeutische of in vivo toepassingen.
Organism	Rhesus makaak
Tissue	Nieren
Synonyms	Llc-Mk2, LLC-MK-2, LLC-MK2 Origineel, LLCMK2, LLcMK2, Lilly Laboratories Cultuur-Monkey Kidney 2

Kenmerken

Age	Volwassen
Morphology	Epitheel
Growth properties	Aanhangend

Regelgevende gegevens

Citation	LLC-MK2 (Cytion catalogusnummer 305149)

LLC-MK2 (origineel) Cellen | 305149

Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9544
CellosaurusAccession	CVCL_3009

Biomoleculaire gegevens

Protein expression	Plasminogeen activator

Omgaan met

Culture Medium	Medium 199, w: 2,7 mM stabiele Glutamine, w: 2,2 g/L NaHCO3, w: EBSS (Cytion artikelnummer 820101a)
Supplements	Vul het medium aan met 1% paardenserum
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Verwijder het oude medium van de adherente cellen en was ze met PBS zonder calcium en magnesium. Gebruik voor T25-flesjes 3-5 ml PBS en voor T75-flesjes 5-10 ml. Bedek de cellen vervolgens volledig met Accutase, met 1-2 ml voor T25-flesjes en 2,5 ml voor T75-flesjes. Laat de cellen gedurende 8-10 minuten bij kamertemperatuur incuberen om ze los te maken. Na incubatie de cellen voorzichtig mengen met 10 ml medium om ze te resuspenderen en vervolgens centrifugeren bij 300xg gedurende 3 minuten. Gooi het supernatant weg, resuspendeer de cellen in vers medium en breng ze over in nieuwe kolven die al vers medium bevatten.
Split ratio	1: 3 tot 1: 4
Seeding density	4×10^4 c^{ellen}/cm^2
Fluid renewal	2 tot 3 keer per week
Freeze medium	Als cryoconserveringsmedium gebruiken we volledig groeimedium (inclusief FBS) + 10% DMSO voor voldoende levensvatbaarheid na het ontdooien, of CM-1 (Cytion catalogusnummer 800100), dat geoptimaliseerde osmoprotectanten en metabolische stabilisatoren bevat om het herstel te verbeteren en door cryo geïnduceerde stress te verminderen.

LLC-MK2 (origineel) Cellen | 305149

Thawing and Culturing Cells

1. Controleer of de flacon bij levering diepgevroren blijft, aangezien de cellen op droog ijs worden verzonden om optimale temperaturen tijdens het transport te behouden.
2. Bewaar het cryoflesje na ontvangst onmiddellijk bij temperaturen lager dan -150 °C om de integriteit van de cellen te behouden, of ga verder met stap 3 als onmiddellijke kweek vereist is.
3. Voor onmiddellijke kweek: ontdooi de flacon snel door deze onder te dompelen in een waterbad van 37 °C met schoon water en een antimicrobieel middel, waarbij u 40-60 seconden zachtjes schudt totdat er een klein ijsklontje overblijft.
4. Voer alle volgende stappen uit onder steriele omstandigheden in een stromingskap en desinfecteer de cryoflacon met 70% ethanol voordat deze wordt geopend.
5. Open voorzichtig de gedesinfecteerde flacon en breng de celsuspensie over in een centrifugebuis van 15 ml met 8 ml kweekmedium op kamertemperatuur en meng voorzichtig.
6. Centrifugeer het mengsel gedurende 3 minuten bij 300 x g om de cellen te scheiden en gooi het supernatant met resterend vriesmedium voorzichtig weg.
7. Resuspendeer de celpellet voorzichtig in 10 ml vers kweekmedium. Verdeel voor adherente cellen de suspensie over twee T25-kweekkolven; breng voor suspensiekweken al het medium over in één T25-kweekkolf om effectieve celinteractie en -groei te bevorderen.
8. Houd u aan de vastgestelde subcultuurprotocollen voor continue groei en onderhoud van de cellijn, om betrouwbare experimentele resultaten te garanderen.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% $_{CO2}$, bevochtigde atmosfeer.

Flask Coating

Geen

Freezing Procedure

Gecryopreserveerde cellijnen worden verzonden op droog ijs in gevalideerde, geïsoleerde verpakkingen met voldoende koelmiddel om gedurende het transport ongeveer -78 °C te handhaven. Inspecteer de verpakking onmiddellijk na ontvangst en breng de flacons onverwijld over naar de juiste opslagplaats.

Shipping Conditions

Gecryopreserveerde cellijnen worden verzonden op droog ijs in gevalideerde, geïsoleerde verpakkingen met voldoende koelmiddel om gedurende het transport ongeveer -78 °C te handhaven. Inspecteer de verpakking onmiddellijk na ontvangst en breng de flacons onverwijld over naar de juiste opslagplaats.

LLC-MK2 (origineel) Cellen | 305149

Storage Conditions	Voor langdurige bewaring plaatst u flesjes in vloeibare stikstof in dampfase bij ongeveer -150 tot -196 °C. Opslag bij -80 °C is alleen aanvaardbaar als korte tussenstap vóór overbrenging naar vloeibare stikstof.

Kwaliteitscontrole en moleculaire analyse

Sterility	Mycoplasmaverontreiniging wordt uitgesloten met zowel PCR-gebaseerde testen als op luminescentie gebaseerde mycoplasmadetectiemethoden. Om er zeker van te zijn dat er geen besmetting is met bacteriën, schimmels of gisten, worden de celculturen dagelijks onderworpen aan visuele inspecties.