

## LLC-MK2 (opprinnelige) celler | 305149

## Generell informasjon

## Description

LLC-MK2 er en kontinuerlig epitelcellelinje som er etablert fra nyrevev fra voksne rhesusaper (\*Macaca mulatta\*). Denne cellelinjen ble opprinnelig isolert på 1950-tallet gjennom trypsinisering av nyrevev fra seks rhesusaper. LLC-MK2-celler har adherente vekstegenskaper og har blitt mye brukt i virologi på grunn av sin høye mottakelighet for ulike virus, inkludert bovint virusdiarévirus 1, humant poliovirus 1 og humant coxsackievirus B4. Cellelinjens opprinnelse og virusfølsomhet gjør den til en ideell modell for studier av virusreplikasjon og cytopatogene effekter.

LLC-MK2-cellelinjen er kjent for sin evne til å bli dyrket i kjemisk definerte, serumfrie medier, noe som muliggjør kontrollerte eksperimentelle forhold. Forskning har vist at disse cellene kan tilpasses til serumfrie forhold uten at det går ut over veksten, selv om de første kulturene ble holdt i medier som inneholdt betydelige mengder hestenserum. Tilpasningen til kjemisk definerte medier er spesielt fordelaktig for virologiske studier, ettersom det minimerer variabiliteten som introduseres av serum, og støtter langsiktig vedlikehold av cellelinjen. Videre har LLC-MK2-cellelinjen vist seg å opprettholde en virusfølsomhet som er sammenlignbar med virusfølsomheten til primære nyreceller fra aper, noe som gjør den til et pålitelig verktøy for studier av virustitrering og vaksineproduksjon.

I tillegg til sin rolle i virologien har LLC-MK2 også blitt undersøkt for sitt tumorgeniske potensial. Selv om den har visse transformerte egenskaper, som evnen til å vokse i myk agar, danner den ikke svulster i in vivo-modeller, noe som tyder på en begrenset tumorgen risiko. Denne egenskapen understreker ytterligere cellelinjens nytteverdi som modellcellelinje for in vitro-studier, samtidig som den bekrefter dens uegnethet for terapeutiske eller in vivo-applikasjoner.

## Organism

Rhesusmakak

## Tissue

Nyre

## Synonyms

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

## Kjennetegn

## Age

Voksen

## Morphology

Epitelial

## Growth properties

Vedhengende

## Regulatoriske data

## Citation

LLC-MK2 (Cytion katalognummer 305149)

## LLC-MK2 (opprinnelige) celler | 305149

**Biosafety level** 1**NCBI\_TaxID** 9544**CellosaurusAccession** CVCL\_3009**Biomolekylære data****Protein expression** Plasminogenaktivator**Håndtering****Culture Medium** Medium 199, m: 2,7 mM stabil glutamin, m: 2,2 g/L NaHCO<sub>3</sub>, m: EBSS (Cytion artikkelnummer 820101a)**Supplements** Suppler mediet med 1 % hesteserum**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Fjern det gamle mediet fra de adherente cellene, og vask dem med PBS uten kalsium og magnesium. Bruk 3-5 ml PBS for T25-kolber og 5-10 ml for T75-kolber. Dekk deretter cellene helt med Accutase, med 1-2 ml for T25-kolber og 2,5 ml for T75-kolber. La cellene inkubere i romtemperatur i 8-10 minutter for å løsne dem. Etter inkubasjon blandes cellene forsiktig med 10 ml medium for å resuspendere dem, og sentrifuger deretter ved 300xg i 3 minutter. Kast supernatanten, resuspender cellene i nytt medium, og overfør dem til nye kolber som allerede inneholder nytt medium.**Split ratio** 1: 3 til 1: 4**Seeding density**  $4 \times 10^4$  celler/cm<sup>2</sup>**Fluid renewal** 2 til 3 ganger per uke**Freeze medium** Som kryopreserveringsmedium bruker vi komplett vekstmedium (inkludert FBS) + 10 % DMSO for tilstrekkelig levedyktighet etter opptining, eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som inneholder optimaliserte osmoteskyttende midler og metabolske stabilisatorer for å øke utvinningen og redusere kryoinduisert stress.

## LLC-MK2 (opprinnelige) celler | 305149

### Thawing and Culturing Cells

1. Kontroller at hetteglasset er dypfrost ved levering, ettersom cellene sendes på tørris for å opprettholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved mottak skal hetteglasset enten oppbevares umiddelbart ved temperaturer under  $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$  for å sikre at cellenes integritet bevares, eller gå videre til trinn 3 hvis umiddelbar dyrking er nødvendig.
3. Ved umiddelbar dyrking tiner du hetteglasset raskt ved å senke det ned i et  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$  varmt vannbad med rent vann og et antimikrobielt middel, og røre forsiktig i 40-60 sekunder til det blir en liten isklump igjen.
4. Utfør alle påfølgende trinn under sterile forhold i en strømningshette, og desinfiser kryoflasken med 70 % etanol før du åpner den.
5. Åpne det desinfiserte hetteglasset forsiktig, og overfør cellesuspensjonen til et 15 ml sentrifugerør som inneholder 8 ml romtemperert dyrkingsmedium, og bland forsiktig.
6. Sentrifuger blandingen ved  $300 \times g$  i 3 minutter for å separere cellene, og kast supernatanten som inneholder rester av frysemedium, forsiktig.
7. Resuspender cellepelleten forsiktig i 10 ml nytt dyrkingsmedium. For adherente celler, del suspensjonen mellom to T25-kulturkolber; for suspensjonskulturer, overfør alt mediet til én T25-kolbe for å fremme effektiv celleinteraksjon og vekst.
8. Følg etablerte subkulturprotokoller for fortsatt vekst og vedlikehold av cellelinjen, noe som sikrer pålitelige eksperimentelle resultater.

### Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$ , 5 %  $\text{CO}_2$ , befuktet atmosfære.

### Flask Coating

Ingen

### Freezing Procedure

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca.  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$  under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

### Shipping Conditions

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca.  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$  under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

## LLC-MK2 (opprinnelige) celler | 305149

### Storage Conditions

For langtidsoppbevaring plasseres hetteglassene i flytende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Lagring ved -80 °C er kun akseptabelt som et kort mellomtrinn før overføring til flytende nitrogen.

## Kvalitetskontroll / Genetisk profil / HLA

### Sterility

Mykoplasma-kontaminering utelukkes ved hjelp av både PCR-baserte analyser og luminescensbaserte metoder for påvisning av mykoplasma.

For å sikre at det ikke finnes bakterie-, sopp- eller gjærkontaminering, blir cellekulturene inspisert visuelt hver dag.