Product sheet

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 opprettholdt i medier som inneholdt betydelige mengder hesteserum. 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 NaHCO3, 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 x 10^4 celler/cm^2
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 osmobeskyttende midler og metabolske stabilisatorer for å øke utvinningen og redusere kryoindusert stress.

LLC-MK2 (opprinnelige) celler | 305149

Thawing and Culturing Cells	1. Kontroller at hetteglasset er dypfryst 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 °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 °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 x 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 dyrkningsmedium. 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 °C, 5 % $_{CO2}$, 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 °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 °C under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

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 og molekylær analyse

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.