Product sheet

Células LLC-MK2 (Original) | 305149

Informações gerais

Description	A LLC-MK2 é uma linha celular epitelial contínua estabelecida a partir do tecido renal de macacos rhesus adultos (*Macaca mulatta*). Esta linha celular foi originalmente isolada na década de 1950 através da tripsinização de tecido renal agrupado de seis macacos rhesus. As células LLC-MK2 apresentam caraterísticas de crescimento aderente e têm sido amplamente utilizadas em virologia devido à sua elevada suscetibilidade a vários vírus, incluindo o vírus da diarreia viral bovina 1, o poliovírus humano 1 e o coxsackievírus humano B4. A origem da linha celular e a suscetibilidade ao vírus fazem dela um modelo ideal para estudar a replicação viral e os efeitos citopatogénicos. A linha de células LLC-MK2 é conhecida pela sua capacidade de ser cultivada em meios quimicamente definidos e sem soro, o que permite condições experimentais controladas. A investigação demonstrou que estas células podem ser adaptadas a condições sem soro sem comprometer o crescimento, embora as culturas iniciais tenham sido mantidas em meios que continham quantidades significativas de soro de cavalo. A adaptação a meios quimicamente definidos é particularmente vantajosa para estudos virológicos, uma vez que minimiza a variabilidade introduzida pelo soro e apoia a manutenção a longo prazo da linha celular. Além disso, foi demonstrado que a linha LLC-MK2 mantém uma sensibilidade ao vírus comparável à das células primárias do rim de macaco, o que a torna uma ferramenta fiável para estudos de titulação viral e de produção de vacinas. Para além do seu papel na virologia, a LLC-MK2 foi também investigada pelo seu potencial tumorigénico. Embora apresente certas caraterísticas transformadas, como a capacidade de crescer em ágar mole, não forma tumores em modelos in vivo, o que sugere um risco tumorigénico limitado. Esta caraterística reforça ainda mais a sua utilidade como modelo de linha celular para estudos in vitro, ao mesmo tempo que confirma a sua inadequação para aplicações terapêuticas ou in vivo.
Organism	Macaco Rhesus
Tissue	Rim
Synonyms	Llc-Mk2, LLC-MK-2, LLC-MK2 Original, LLCMK2, LLcMK2, Lilly Laboratories Culture-Monkey Kidney 2

Caraterísticas

Age	Adulto
Morphology	Epitelial
Growth properties	Aderente

Dados regulamentares

Citation	LLC-MK2 (número de catálogo da Cytion 305149)

Product sheet

Células LLC-MK2 (Original) | 305149

Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9544
CellosaurusAccession	CVCL_3009

Dados biomoleculares

Protein expression	Ativador do plasminogénio

Manuseamento

Culture Medium	Meio 199, com: 2,7 mM de glutamina estável, com: 2,2 g/L NaHCO3, com: EBSS (número de artigo Cytion 820101a)
Supplements	Completar o meio com 1% de soro de cavalo
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Retirar o meio antigo das células aderentes e lavá-las com PBS sem cálcio e magnésio. Nos frascos T25, utilizar 3-5 ml de PBS e nos frascos T75, 5-10 ml. Em seguida, cobrir completamente as células com Accutase, utilizando 1-2 ml para os frascos T25 e 2,5 ml para os frascos T75. Deixar as células incubar à temperatura ambiente durante 8-10 minutos para as destacar. Após a incubação, misturar suavemente as células com 10 ml de meio para as ressuspender e, em seguida, centrifugar a 300xg durante 3 minutos. Deitar fora o sobrenadante, ressuspender as células em meio fresco e transferi-las para novos frascos que já contenham meio fresco.
Split ratio	1: 3 a 1: 4
Seeding density	4 x 10^4 células/cm^2
Fluid renewal	2 a 3 vezes por semana
Freeze medium	Como meio de criopreservação, utilizamos um meio de crescimento completo (incluindo FBS) + 10% DMSO para uma viabilidade pós-descongelamento adequada, ou CM-1 (número de catálogo Cytion 800100), que inclui osmoprotectores optimizados e estabilizadores metabólicos para melhorar a recuperação e reduzir o stress induzido pela crio.

Células LLC-MK2 (Original) | 305149

Thawing and Culturing Cells	1. Confirme que o frasco permanece profundamente congelado aquando da entrega, uma vez que as células são enviadas em gelo seco para manter as temperaturas ideais durante o transporte. 2. Após a receção, armazenar o frasco criogénico imediatamente a temperaturas inferiores a -150°C para garantir a preservação da integridade celular, ou avançar para o passo 3 se for necessária uma cultura imediata. 3. Para uma cultura imediata, descongelar rapidamente o frasco imergindo-o num banho de água a 37°C com água limpa e um agente antimicrobiano, agitando suavemente durante 40-60 segundos até ficar um pequeno aglomerado de gelo. 4. Efetuar todos os passos subsequentes em condições estéreis numa capela de fluxo, desinfectando o frasco criogénico com etanol a 70% antes de o abrir. 5. Abrir cuidadosamente o frasco desinfectado e transferir a suspensão de células para um tubo de centrifugação de 15 ml contendo 8 ml de meio de cultura à temperatura ambiente, misturando suavemente. 6. Centrifugar a mistura a 300 x g durante 3 minutos para separar as células e eliminar cuidadosamente o sobrenadante que contém o meio de congelação residual. 7. Ressuspender suavemente o pellet de células em 10 ml de meio de cultura fresco. No caso de células aderentes, dividir a suspensão entre dois frascos de cultura T25; no caso de culturas em suspensão, transferir todo o meio para um frasco T25 para promover uma interação e um crescimento eficazes das células. 8. Cumprir os protocolos de subcultura estabelecidos para o crescimento e manutenção contínuos da linha celular, garantindo resultados experimentais fiáveis.
Incubation Atmosphere	37°C, 5%$_{CO2}$, atmosfera humidificada.
Flask Coating	Nenhum
Freezing Procedure	As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente -78 °C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

Células LLC-MK2 (Original) | 305149

Shipping Conditions	As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente -78 °C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.
Storage Conditions	Para conservação a longo prazo, colocar os frascos em azoto líquido em fase de vapor a uma temperatura entre -150 e -196 °C. O armazenamento a -80 °C é aceitável apenas como um curto passo intermédio antes da transferência para azoto líquido.

Controlo de Qualidade e Análise Molecular

Sterility	A contaminação por micoplasma é excluída utilizando ensaios baseados em PCR e métodos de deteção de micoplasma baseados em luminescência. Para garantir que não há contaminação bacteriana, fúngica ou de leveduras, as culturas de células são sujeitas a inspecções visuais diárias.