

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 características 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 citopatogênicos.

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 características transformadas, como a capacidade de crescer em ágar mole, não forma tumores em modelos in vivo, o que sugere um risco tumorigénico limitado. Esta característica 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 Cytion 305149)

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** 4×10^4 células/cm²**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 otimizados 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 $300 \times g$ 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% CO_2 , 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 / Perfil genético / HLA

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.