Product sheet

Celule LLC-MK2 (originale) | 305149

Informații generale

Description	LLC-MK2 este o linie celulară epitelială continuă stabilită din țesutul renal al maimuțelor rhesus adulte (*Macaca mulatta*). Această linie celulară a fost izolată inițial în anii 1950 prin tripsinizarea țesutului renal combinat de la șase maimuțe rhesus. Celulele LLC-MK2 prezintă caracteristici de creștere aderentă și au fost utilizate pe scară largă în virusologie datorită sensibilității lor ridicate la diverse virusuri, inclusiv virusul diareei virale bovine 1, poliovirusul uman 1 și coxsackievirusul uman B4. Originea liniei celulare și sensibilitatea la virusuri fac din aceasta un model ideal pentru studiul replicării virale și al efectelor citopatogene. Linia celulară LLC-MK2 este cunoscută pentru capacitatea sa de a fi cultivată în medii definite chimic, fără ser, ceea ce permite condiții experimentale controlate. Cercetările au demonstrat că aceste celule pot fi adaptate la condiții fără ser fără a compromite creșterea, deși culturile inițiale au fost menținute în medii care conțineau cantități semnificative de ser de cal. Adaptarea la medii definite chimic este deosebit de avantajoasă pentru studiile virusologice, deoarece minimizează variabilitatea introdusă de ser și sprijină menținerea pe termen lung a liniei celulare. În plus, s-a demonstrat că linia LLC-MK2 menține o sensibilitate la virusuri comparabilă cu cea a celulelor primare de rinichi de maimuță, ceea ce o face un instrument fiabil pentru studiile de titrare virală și de producție de vaccinuri. În plus față de rolul său în virusologie, LLC-MK2 a fost, de asemenea, investigată pentru potențialul său tumorigen. Deși prezintă anumite caracteristici transformate, cum ar fi capacitatea de a crește în agar moale, nu formează tumori în modele in vivo, sugerând un risc tumorigen limitat. Această caracteristică subliniază și mai mult utilitatea sa ca linie celulară model pentru studii in vitro, confirmând în același timp nepotrivirea sa pentru aplicații terapeutice sau in vivo.
Organism	Macac Rhesus
Tissue	Rinichi
Synonyms	Llc-Mk2, LLC-MK-2, LLC-MK2 Original, LLCMK2, LLcMK2, Lilly Laboratories Culture-Monkey Kidney 2

Caracteristici

Age	Adult
Morphology	Epitelial
Growth properties	Aderent

Date de reglementare

Citation	LLC-MK2 (număr de catalog Cytion 305149)

Celule LLC-MK2 (originale) | 305149

Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9544
CellosaurusAccession	CVCL_3009

Date biomoleculare

Protein expression	Activator de plasminogen

Manipulare

Culture Medium	Mediu 199, w: 2,7 mM glutamină stabilă, w: 2,2 g/L NaHCO3, w: EBSS (numărul articolului Cytion 820101a)
Supplements	Suplimentaţi mediul cu 1% ser de cal
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Îndepărtaţi mediul vechi de pe celulele aderente şi spălaţi-le cu PBS care nu conţine calciu şi magneziu. Pentru flacoanele T25, se utilizează 3-5 ml de PBS, iar pentru flacoanele T75, 5-10 ml. Apoi, se acoperă celulele complet cu Accutase, folosind 1-2 ml pentru flacoanele T25 şi 2,5 ml pentru flacoanele T75. Lăsaţi celulele la incubare la temperatura camerei timp de 8-10 minute pentru a le detaşa. După incubare, amestecaţi uşor celulele cu 10 ml de mediu pentru a le resuspenda, apoi centrifugaţi la 300xg timp de 3 minute. Aruncaţi supernatantul, resuspendaţi celulele în mediu proaspăt şi transferaţi-le în flacoane noi care conţin deja mediu proaspăt.
Seeding density	4 x 10^4 celule/cm^2
Fluid renewal	de 2 până la 3 ori pe săptămână
Freeze medium	Ca mediu de crioconservare, folosim mediu de creştere complet (inclusiv FBS) + 10% DMSO pentru o viabilitate adecvată după dezgheţare sau CM-1 (număr de catalog Cytion 800100), care include osmoprotectanţi optimizaţi şi stabilizatori metabolici pentru a spori recuperarea şi a reduce stresul indus de criogenie.

Celule LLC-MK2 (originale) | 305149

Thawing and Culturing Cells

1. Confirmați că flaconul rămâne profund înghețat la livrare, deoarece celulele sunt expediate pe gheață carbonică pentru a menține temperaturi optime în timpul transportului.
2. La primire, fie depozitați crioviola imediat la temperaturi sub -150 °C pentru a asigura păstrarea integrității celulare, fie treceți la etapa 3 dacă este necesară cultivarea imediată.
3. Pentru cultivarea imediată, dezghețați rapid flaconul prin scufundarea acestuia într-o baie de apă la 37 °C cu apă curată și un agent antimicrobian, agitându-l ușor timp de 40-60 de secunde până când rămâne o mică aglomerare de gheață.
4. Se efectuează toate etapele ulterioare în condiții sterile, într-o hotă cu flux, dezinfectând crioviola cu etanol 70% înainte de deschidere.
5. Se deschide cu grijă flaconul dezinfectat și se transferă suspensia celulară într-un tub de centrifugare de 15 ml care conține 8 ml de mediu de cultură la temperatura camerei, amestecând ușor.
6. Se centrifughează amestecul la 300 x g timp de 3 minute pentru a separa celulele și se aruncă cu grijă supernatantul care conține mediul de congelare rezidual.
7. Se resuspendă ușor peletul celular în 10 ml de mediu de cultură proaspăt. Pentru celulele aderente, împărțiți suspensia între două flacoane de cultură T25; pentru culturile în suspensie, transferați tot mediul într-un flacon T25 pentru a promova interacțiunea și creșterea celulară eficientă.
8. Respectați protocoalele de subcultură stabilite pentru creșterea și menținerea continuă a liniei celulare, asigurând rezultate experimentale fiabile.

Incubation Atmosphere	37°C, 5% $_{CO2}$, atmosferă umidificată.
Flask Coating	Niciuna
Freezing Procedure	Liniile celulare crioconservate sunt expediate pe gheață carbonică în ambalaje izolate, validate, cu suficient agent frigorific pentru a menține aproximativ -78 °C pe toată durata transportului. La primire, se inspectează imediat recipientul și se transferă fără întârziere fiolele în depozitul corespunzător.
Shipping Conditions	Liniile celulare crioconservate sunt expediate pe gheață carbonică în ambalaje izolate, validate, cu suficient agent frigorific pentru a menține aproximativ -78 °C pe toată durata transportului. La primire, se inspectează imediat recipientul și se transferă fără întârziere fiolele în depozitul corespunzător.

Celule LLC-MK2 (originale) | 305149

Storage Conditions	Pentru conservarea pe termen lung, flacoanele se plasează în azot lichid în fază de vapori la o temperatură cuprinsă între -150 și -196 °C. Păstrarea la -80 °C este acceptabilă doar ca o scurtă etapă intermediară înainte de transferul în azot lichid.

Controlul calității și analiza moleculară

Sterility	Contaminarea cu micoplasmă este exclusă utilizând atât teste bazate pe PCR, cât și metode de detectare a micoplasmei bazate pe luminescență. Pentru a se asigura că nu există contaminare bacteriană, fungică sau de drojdie, culturile celulare sunt supuse unor inspecții vizuale zilnice.