Product sheet

LLC-MK2 (original)-celler | 305149

Allmän information

Description	LLC-MK2 är en kontinuerlig epitelcellinje som etablerats från njurvävnaden hos vuxna rhesusapor (*Macaca mulatta*). Denna cellinje isolerades ursprungligen på 1950-talet genom trypsinisering av poolad njurvävnad från sex rhesusapor. LLC-MK2-cellerna har adherenta tillväxtegenskaper och har använts flitigt inom virologin på grund av sin höga känslighet för olika virus, bland annat bovint virusdiarrévirus 1, humant poliovirus 1 och humant coxsackievirus B4. Cellinjens ursprung och viruskänslighet gör den till en idealisk modell för att studera virusreplikation och cytopatogena effekter. LLC-MK2-cellinjen är känd för sin förmåga att odlas i kemiskt definierade, serumfria medier, vilket möjliggör kontrollerade experimentella förhållanden. Forskning har visat att dessa celler kan anpassas till serumfria förhållanden utan att tillväxten äventyras, även om de första kulturerna hölls i medier som innehöll betydande mängder hästserum. Anpassningen till kemiskt definierade medier är särskilt fördelaktig för virologiska studier, eftersom den minimerar den variabilitet som introduceras av serum och stöder långsiktigt underhåll av cellinjen. LLC-MK2-cellinjen har dessutom visat sig ha en viruskänslighet som är jämförbar med den hos primära njurceller från apor, vilket gör den till ett tillförlitligt verktyg för studier av virustitrering och vaccinproduktion. Förutom sin roll inom virologin har LLC-MK2 också undersökts för sin tumörframkallande potential. Även om den uppvisar vissa transformerade egenskaper, till exempel förmågan att växa i mjuk agar, bildar den inte tumörer i in vivo-modeller, vilket tyder på en begränsad tumörframkallande risk. Denna egenskap understryker ytterligare dess användbarhet som modellcellinje för in vitro-studier, samtidigt som den bekräftar dess olämplighet för terapeutiska eller in vivo-applikationer.
Organism	Rhesusmakak
Tissue	Njurar
Synonyms	Llc-Mk2, LLC-MK-2, LLC-MK2 Original, LLCMK2, LLcMK2, Lilly Laboratories Culture-Monkey Kidney 2

Egenskaper

Age	Vuxen
Morphology	Epitelial
Growth properties	Följsam

Lagstadgade uppgifter

Citation	LLC-MK2 (Cytion katalognummer 305149)
Biosafety level	1

LLC-MK2 (original)-celler | 305149

NCBI_TaxID	9544
CellosaurusAccession	CVCL_3009

Biomolekylära data

Protein expression	Plasminogenaktivator

Hantering

Culture Medium	Medium 199, w: 2,7 mM stabilt glutamin, w: 2,2 g/L NaHCO3, w: EBSS (Cytion artikelnummer 820101a)
Supplements	Komplettera mediet med 1% hästserum
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Ta bort det gamla mediet från de adherenta cellerna och tvätta dem med PBS som saknar kalcium och magnesium. Använd 3-5 ml PBS för T25-kolvar och 5-10 ml för T75-kolvar. Täck sedan cellerna helt med Accutase, använd 1-2 ml för T25-kolvar och 2,5 ml för T75-kolvar. Låt cellerna inkubera i rumstemperatur i 8-10 minuter så att de lossnar. Efter inkubationen, blanda cellerna försiktigt med 10 ml medium för att resuspendera dem och centrifugera sedan vid 300xg i 3 minuter. Kassera supernatanten, resuspendera cellerna i färskt medium och överför dem till nya kolvar som redan innehåller färskt medium.
Split ratio	1: 3 till 1: 4
Seeding density	4 x 10^4 celler/cm^2
Fluid renewal	2 till 3 gånger per vecka
Freeze medium	Som kryokonserveringsmedium använder vi komplett tillväxtmedium (inklusive FBS) + 10% DMSO för adekvat viabilitet efter upptining, eller CM-1 (Cytion katalognummer 800100), som innehåller optimerade osmoprotektanter och metaboliska stabilisatorer för att förbättra återhämtningen och minska kryoinducerad stress.

LLC-MK2 (original)-celler | 305149

Thawing and Culturing Cells

1. Bekräfta att flaskan är djupfryst vid leverans, eftersom cellerna skickas på torris för att bibehålla optimala temperaturer under transporten.
2. Vid mottagandet ska du antingen förvara kryovialen omedelbart vid temperaturer under -150 °C för att säkerställa att cellernas integritet bevaras, eller gå vidare till steg 3 om omedelbar odling krävs.
3. Vid omedelbar odling ska injektionsflaskan snabbt tinas genom att den sänks ned i ett 37 °C vattenbad med rent vatten och ett antimikrobiellt medel och omrörs försiktigt i 40-60 sekunder tills en liten isklump återstår.
4. Utför alla efterföljande steg under sterila förhållanden i en flödeshuv och desinficera kryovialerna med 70 % etanol innan de öppnas.
5. Öppna försiktigt den desinficerade flaskan och överför cellsuspensionen till ett 15 ml centrifugrör som innehåller 8 ml rumstempererat odlingsmedium och blanda försiktigt.
6. Centrifugera blandningen vid 300 x g i 3 minuter för att separera cellerna och kassera försiktigt supernatanten som innehåller resterande frysmedium.
7. Resuspendera försiktigt cellpelleten i 10 ml färskt odlingsmedium. För adherenta celler, fördela suspensionen mellan två T25-kulturkolvar; för suspensionskulturer, överför allt medium till en T25-kolv för att främja effektiv cellinteraktion och tillväxt.
8. Följ fastställda subkulturprotokoll för fortsatt tillväxt och underhåll av cellinjen, vilket säkerställer tillförlitliga experimentella resultat.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% $_{CO2}$, befuktad atmosfär.

Flask Coating

Ingen

Freezing Procedure

Kryopreserverade cellinjer skickas på torris i validerade, isolerade förpackningar med tillräckligt med kylmedel för att hålla cirka -78 °C under hela transporten. Vid mottagandet ska behållaren omedelbart inspekteras och flaskorna utan dröjsmål överföras till lämplig förvaring.

Shipping Conditions

Kryopreserverade cellinjer skickas på torris i validerade, isolerade förpackningar med tillräckligt med kylmedel för att hålla cirka -78 °C under hela transporten. Vid mottagandet ska behållaren omedelbart inspekteras och flaskorna utan dröjsmål överföras till lämplig förvaring.

Storage Conditions	För långtidsförvaring, placera flaskorna i flytande kväve i ångfas vid ca -150 till -196 °C. Förvaring vid -80 °C är acceptabelt endast som ett kort mellanliggande steg innan överföring till flytande kväve.

Kvalitetskontroll och molekylär analys

Sterility	Mykoplasmakontaminering utesluts med hjälp av både PCR-baserade analyser och luminiscensbaserade metoder för mykoplasmadiagnostik. För att säkerställa att det inte finns någon kontaminering av bakterier, svamp eller jäst utsätts cellkulturerna för dagliga visuella inspektioner.