Product sheet

Cellules LLC-MK2 (originales) | 305149

Renseignements généraux

Description	La LLC-MK2 est une lignée cellulaire épithéliale continue établie à partir de tissu rénal de singes rhésus adultes (*Macaca mulatta*). Cette lignée cellulaire a été initialement isolée dans les années 1950 par trypsinisation d'un mélange de tissus rénaux provenant de six singes rhésus. Les cellules LLC-MK2 présentent des caractéristiques de croissance adhérente et ont été largement utilisées en virologie en raison de leur grande sensibilité à divers virus, notamment le virus de la diarrhée virale bovine de type 1, le poliovirus humain de type 1 et le coxsackievirus humain B4. L'origine de la lignée cellulaire et sa sensibilité aux virus en font un modèle idéal pour l'étude de la réplication virale et des effets cytopathogènes. La lignée cellulaire LLC-MK2 est connue pour sa capacité à être cultivée dans des milieux chimiquement définis et sans sérum, ce qui permet de contrôler les conditions expérimentales. Des recherches ont démontré que ces cellules peuvent s'adapter à des conditions sans sérum sans compromettre leur croissance, bien que les cultures initiales aient été maintenues dans des milieux contenant des quantités importantes de sérum de cheval. L'adaptation à des milieux chimiquement définis est particulièrement avantageuse pour les études virologiques, car elle minimise la variabilité introduite par le sérum et favorise le maintien à long terme de la lignée cellulaire. De plus, il a été démontré que la lignée LLC-MK2 conserve une sensibilité aux virus comparable à celle des cellules rénales primaires de singe, ce qui en fait un outil fiable pour les études de titrage viral et de production de vaccins. Outre son rôle en virologie, la lignée LLC-MK2 a également fait l'objet d'études concernant son potentiel tumorigène. Bien qu'elle présente certaines caractéristiques de transformation, telles que la capacité de croître dans de l'agar mou, elle ne forme pas de tumeurs dans les modèles in vivo, ce qui suggère un risque tumorigène limité. Cette caractéristique souligne encore davantage son utilité en tant que lignée cellulaire modèle pour les études in vitro, tout en confirmant qu'elle ne convient pas aux applications thérapeutiques ou in vivo.
Organism	Macaque rhésus
Tissue	Rein
Synonyms	Llc-Mk2, LLC-MK-2, LLC-MK2 Original, LLCMK2, LLcMK2, Lilly Laboratories Culture-Monkey Kidney 2

Caractéristiques

Age	Adulte
Morphology	Épithélial
Growth properties	Adepte

Données réglementaires

Citation	LLC-MK2 (numéro de catalogue Cytion 305149)

Cellules LLC-MK2 (originales) | 305149

Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9544
CellosaurusAccession	CVCL_3009

Données biomoléculaires

Protein expression	Activateur du plasminogène

Manipulation

Culture Medium	Milieu 199, contenant 2,7 mM de glutamine stable, 2,2 g/L de $NaHCO_3$, et EBSS (référence Cytion 820101a)
Supplements	Ajouter 1 % de sérum de cheval au milieu de culture
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Retirez l'ancien milieu des cellules adhérentes et lavez-les avec du PBS sans calcium ni magnésium. Pour les flacons T25, utilisez 3 à 5 ml de PBS, et pour les flacons T75, utilisez 5 à 10 ml. Ensuite, recouvrez complètement les cellules d'Accutase, en utilisant 1 à 2 ml pour les flacons T25 et 2,5 ml pour les flacons T75. Laissez les cellules incuber à température ambiante pendant 8 à 10 minutes afin de les détacher. Après l'incubation, mélangez délicatement les cellules avec 10 ml de milieu pour les remettre en suspension, puis centrifugez à 300 x g pendant 3 minutes. Éliminez le surnageant, remettez les cellules en suspension dans du milieu frais, puis transférez-les dans de nouveaux flacons contenant déjà du milieu frais.
Seeding density	4×10^4 cellules/cm^2
Fluid renewal	2 à 3 fois par semaine
Freeze medium	Comme milieu de cryoconservation, nous utilisons un milieu de croissance complet (contenant du sérum fœtal bovin) + 10 % de DMSO pour assurer une viabilité adéquate après décongélation, ou du CM-1 (référence Cytion 800100), qui contient des osmoprotecteurs et des stabilisateurs métaboliques optimisés pour améliorer la récupération et réduire le stress induit par la cryoconservation.

Cellules LLC-MK2 (originales) | 305149

Thawing and Culturing Cells

1. Assurez-vous que le flacon reste bien congelé à la livraison, car les cellules sont expédiées sur de la glace sèche afin de maintenir des températures optimales pendant le transport.

2. À la réception, conservez immédiatement le cryofiole à une température inférieure à -150 °C pour garantir la préservation de l'intégrité cellulaire, ou passez à l'étape 3 si une culture immédiate est nécessaire.

3. Pour une culture immédiate, décongelez rapidement le flacon en l'immergeant dans un bain-marie à 37 °C contenant de l'eau propre et un agent antimicrobien, en agitant doucement pendant 40 à 60 secondes jusqu'à ce qu'il ne reste qu'un petit morceau de glace.

4. Effectuez toutes les étapes suivantes dans des conditions stériles sous une hotte à flux laminaire, en désinfectant le cryotube avec de l'éthanol à 70 % avant de l'ouvrir.

5. Ouvrez avec précaution le flacon désinfecté et transférez la suspension cellulaire dans un tube à centrifuger de 15 ml contenant 8 ml de milieu de culture à température ambiante, en mélangeant délicatement.

6. Centrifuger le mélange à 300 x g pendant 3 minutes pour séparer les cellules, puis jeter avec précaution le surnageant contenant le milieu de congélation résiduel.

7. Remettre délicatement le culot cellulaire en suspension dans 10 ml de milieu de culture frais. Pour les cellules adhérentes, répartir la suspension dans deux flacons de culture T25; pour les cultures en suspension, transférer la totalité du milieu dans un seul flacon T25 afin de favoriser une interaction et une croissance cellulaires efficaces.

8. Respectez les protocoles de sous-culture établis pour assurer la croissance continue et le maintien de la lignée cellulaire, garantissant ainsi des résultats expérimentaux fiables.

Incubation Atmosphere

37 °C, 5 % de CO_2, atmosphère humidifiée.

Shipping Conditions

Les lignées cellulaires cryoconservées sont expédiées dans de la glace sèche, dans un emballage isotherme validé contenant suffisamment de réfrigérant pour maintenir une température d'environ −78 °C pendant tout le transport. À la réception, inspectez immédiatement le conteneur et transférez sans délai les flacons dans un lieu de stockage approprié.

Storage Conditions

Pour une conservation à long terme, placez les flacons dans de l'azote liquide en phase vapeur à une température comprise entre environ −150 et −196 °C. L'entreposage à −80 °C n'est acceptable qu'à titre d'étape intermédiaire de courte durée avant le transfert dans l'azote liquide.

Cellules LLC-MK2 (originales) | 305149

Contrôle de la qualité et analyse moléculaire

Sterility

La contamination par les mycoplasmes est exclue à l'aide de tests basés sur la PCR et de méthodes de détection des mycoplasmes par luminescence.

Afin de s’assurer qu’il n’y a aucune contamination bactérienne, fongique ou par des levures, les cultures cellulaires font l’objet d’inspections visuelles quotidiennes.