Product sheet

Células LLC-MK2 (originais) | 305149

Informações gerais

Description	A LLC-MK2 é uma linhagem celular epitelial contínua estabelecida a partir do tecido renal de macacos rhesus adultos (*Macaca mulatta*). Essa linhagem celular foi originalmente isolada na década de 1950 por meio da tripsinização de tecido renal agrupado proveniente de seis macacos rhesus. As células LLC-MK2 apresentam características de crescimento aderente e têm sido amplamente utilizadas em virologia devido à sua alta suscetibilidade a vários vírus, incluindo o vírus da diarreia viral bovina 1, o poliovírus humano 1 e o coxsackievírus humano B4. A origem da linhagem celular e sua suscetibilidade a vírus a tornam um modelo ideal para o estudo da replicação viral e dos efeitos citopatogênicos. A linhagem celular LLC-MK2 é conhecida por sua capacidade de ser cultivada em meios quimicamente definidos e livres de soro, o que permite condições experimentais controladas. Pesquisas demonstraram que essas células podem ser adaptadas a condições livres de soro sem comprometer o crescimento, embora as culturas iniciais tenham sido mantidas em meios contendo quantidades significativas de soro de cavalo. A adaptação a meios quimicamente definidos é particularmente vantajosa para estudos virológicos, pois minimiza a variabilidade introduzida pelo soro e permite a manutenção da linha celular a longo prazo. Além disso, demonstrou-se que a linha LLC-MK2 mantém uma sensibilidade viral comparável à das células renais primárias de macaco, tornando-a uma ferramenta confiável para estudos de titulação viral e produção de vacinas. Além de seu papel na virologia, a LLC-MK2 também foi investigada quanto ao seu potencial tumorigênico. Embora apresente certas características de transformação, como a capacidade de crescer em ágar mole, ela não forma tumores em modelos in vivo, sugerindo um risco tumorigênico limitado. Essa característica ressalta ainda mais sua utilidade como linha celular modelo para estudos in vitro, ao mesmo tempo em que confirma 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

Características

Age	Adulto
Morphology	Epithelial
Growth properties	Aderente

Dados regulatórios

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

Células LLC-MK2 (originais) | 305149

Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9544
CellosaurusAccession	CVCL_3009

Dados biomoleculares

Protein expression	Ativador do plasminogênio

Manuseio

Culture Medium	Meio 199, p: 2,7 mM de glutamina estável, p: 2,2 g/L de $NaHCO_3$, p: EBSS (número de artigo da Cytion 820101a)
Supplements	Adicione ao meio 1% de soro de cavalo
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Remova o meio antigo das células aderentes e lave-as com PBS sem cálcio nem magnésio. Para frascos T25, use 3 a 5 ml de PBS; para frascos T75, use 5 a 10 ml. Em seguida, cubra as células completamente com Accutase, utilizando 1 a 2 ml para frascos T25 e 2,5 ml para frascos T75. Deixe as células incubarem à temperatura ambiente por 8 a 10 minutos para que se desprendam. Após a incubação, misture delicadamente as células com 10 ml de meio para ressuspender, depois centrifugue a 300xg por 3 minutos. Descarte o sobrenadante, ressuspenda as células em meio fresco e transfira-as para novos frascos que já contenham meio fresco.
Seeding density	4×10^4 células/cm^2
Fluid renewal	2 a 3 vezes por semana
Freeze medium	Como meio de criopreservação, utilizamos meio de crescimento completo (incluindo FBS) + 10% de DMSO para garantir viabilidade adequada após o descongelamento, ou CM-1 (número de catálogo da Cytion 800100), que inclui osmoprotetores e estabilizadores metabólicos otimizados para melhorar a recuperação e reduzir o estresse induzido pela criopreservação.

Células LLC-MK2 (originais) | 305149

Thawing and Culturing Cells	1. Verifique se o frasco permanece profundamente congelado no momento da entrega, pois as células são enviadas em gelo seco para manter as temperaturas ideais durante o transporte. 2. Após o recebimento, armazene o criovial imediatamente a temperaturas abaixo de -150 °C para garantir a preservação da integridade celular ou prossiga para a etapa 3, caso seja necessária a cultura imediata. 3. Para cultura imediata, descongele rapidamente o frasco imergindo-o em um banho-maria a 37 °C com água limpa e um agente antimicrobiano, agitando suavemente por 40 a 60 segundos até que reste apenas um pequeno pedaço de gelo. 4. Realize todas as etapas subsequentes em condições estéreis em uma cabine de fluxo, desinfetando o criovial com etanol a 70% antes de abri-lo. 5. Abra cuidadosamente o frasco desinfetado e transfira a suspensão celular para um tubo de centrífuga de 15 ml contendo 8 ml de meio de cultura à temperatura ambiente, misturando delicadamente. 6. Centrifugue a mistura a 300 x g por 3 minutos para separar as células e descarte cuidadosamente o sobrenadante contendo o meio de congelamento residual. 7. Ressuspender suavemente o sedimento celular em 10 ml de meio de cultura fresco. Para células aderentes, dividir a suspensão entre dois frascos de cultura T25; para culturas em suspensão, transferir todo o meio para um frasco T25 a fim de promover a interação e o crescimento celular eficazes. 8. Siga os protocolos de subcultura estabelecidos para o crescimento contínuo e a manutenção da linhagem celular, garantindo resultados experimentais confiáveis.
Incubation Atmosphere	37 °C, 5% de CO_2, atmosfera umidificada.
Shipping Conditions	As linhagens celulares criopreservadas são enviadas em gelo seco, em embalagens isoladas e validadas, com refrigerante suficiente para manter a temperatura em aproximadamente −78 °C durante todo o transporte. Ao receber a remessa, inspecione o recipiente imediatamente e transfira os frascos sem demora para o local de armazenamento adequado.
Storage Conditions	Para preservação a longo prazo, coloque os frascos em nitrogênio líquido em fase de vapor a uma temperatura entre aproximadamente −150 e −196 °C. O armazenamento a −80 °C é aceitável apenas como uma etapa intermediária de curta duração antes da transferência para o nitrogênio líquido.

Controle de Qualidade e Análise Molecular

Células LLC-MK2 (originais) | 305149

Sterility	A contaminação por micoplasma é descartada por meio de ensaios baseados em PCR e de métodos de detecção de micoplasma baseados em luminescência. Para garantir que não haja contaminação por bactérias, fungos ou leveduras, as culturas celulares são submetidas a inspeções visuais diárias.