LLC-MK2

305149

INFORMAÇÕES GERAIS

Descrição

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 caraterísticas 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 citopatogénicos.
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 caraterísticas transformadas, como a capacidade de crescer em ágar mole, não forma tumores em modelos in vivo, o que sugere um risco tumorigénico limitado. Esta caraterística 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.

Tecido	Rim

Sinónimos

- Llc-Mk2
- LLC-MK-2
- LLC-MK2 Original
- LLCMK2
- LLcMK2
- Lilly Laboratories Culture-Monkey Kidney 2

CLASSIFICAÇÃO

Organismo	Macaco rhesus
Propriedades de crescimento	Aderente
Nível de biossegurança	1

CARACTERÍSTICAS

Morfologia	Epitelial

IDENTIFICADORES

Referência

LLC-MK2 (número de catálogo da Cytion 305149)

Número de identificação fiscal do NCBI	9544

Cellosaurus	CVCL_3009

EXPRESSÃO E SUSCETIBILIDADE

Expressão proteica

Ativador do plasminogénio

MANUSEAMENTO E CULTURA

Meio de cultura

Meio 199, com: 2,7 mM de glutamina estável, com: 2,2 g/L NaHCO3, com: EBSS (número de artigo Cytion 820101a)

Atmosfera de incubação	37°C, 5%CO2, atmosfera humidificada.

Suplementos

Completar o meio com 1% de soro de cavalo

Reagente de dissociação	Accutase

Subcultura

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.

Densidade de sementeira	4 x 10^4 células/cm^2
Renovação de fluidos	2 a 3 vezes por semana

Descongelamento e cultura

Confirm that the vial remains deeply frozen upon delivery, as cells are shipped on dry ice to maintain optimal temperatures during transit.
Upon receipt, either store the cryovial immediately at temperatures below -150°C to ensure the preservation of cellular integrity, or proceed to step 3 if immediate culturing is required.
For immediate culturing, swiftly thaw the vial by immersing it in a 37°C water bath with clean water and an antimicrobial agent, agitating gently for 40-60 seconds until a small ice clump remains.
Perform all subsequent steps under sterile conditions in a flow hood, disinfecting the cryovial with 70% ethanol before opening.
Carefully open the disinfected vial and transfer the cell suspension into a 15 ml centrifuge tube containing 8 ml of room-temperature culture medium, mixing gently.
Centrifuge the mixture at 300 x g for 3 minutes to separate the cells and carefully discard the supernatant containing residual freezing medium.
Gently resuspend the cell pellet in 10 ml of fresh culture medium. For adherent cells, divide the suspension between two T25 culture flasks; for suspension cultures, transfer all the medium into one T25 flask to promote effective cell interaction and growth.
Adhere to established subculture protocols for continued growth and maintenance of the cell line, ensuring reliable experimental outcomes.

CONTROLO DE QUALIDADE E CRIOPRESERVAÇÃO

Esterilidade

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.

Meio de congelação	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 optimizados e estabilizadores metabólicos para melhorar a recuperação e reduzir o stress induzido pela crio.

Condições de armazenamento

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.

Condições de envio

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.

DOADOR

Idade do dador	Adulto

ASPECTOS LEGAIS E DE SEGURANÇA

Precauções de segurança

Quando se planeia armazenar um criovial em nitrogénio líquido para descongelação futura, é obrigatório aderir a medidas de segurança rigorosas. Luvas e vestuário de proteção adequados são essenciais, e a utilização de uma máscara facial ou óculos de segurança é necessária durante a transferência de amostras congeladas para ou do tanque de nitrogénio líquido. Isto destina-se a mitigar o risco de ferimentos provocados por potenciais explosões de crioviais após a remoção, que podem resultar na projeção de fragmentos afiados.

Garantia

Na Cytion, nós garantimos a qualidade e a viabilidade de nossos produtos.
Garantimos que nossas células serão viáveis no início da cultura por 60 dias após o envio de nossas instalações.
Asseguramos que todos os materiais estão em conformidade com as especificações descritas no Certificado de Análise e/ou Folha de Produto
Para mais informações, consulte a nossa <a href=""/Who-we-are/Warranty/"" hreflang=""x-default"">Declaração de Garantia

É necessário um Acordo de Transferência de Material	Yes