

Клетки LLC-PK1 | 607264

Обща информация

Description

Клетките LLC-PK1 са утвърдена и широко използвана клетъчна линия в биомедицинските изследвания. Тези клетки са получени от бъбрек на здраво мъжко прасе, като показват типична епителна морфология. Линията LLC-PK1 е поляризирана и съдържа тесни връзки, което я прави идеален модел за епителна тъкан.

Една от критичните характеристики на клетките LLC-PK1 е способността им да произвеждат плазминогенен активатор - вещество, което стимулира фибринолизата. Това свойство прави LLC-PK1 клетките особено ценни в изследванията на тромбозата.

През последните години плазминогенният активатор е включен в състава на лекарствата, използвани за лечение на тромбоза, тъй като улеснява разтварянето на малки кръвни съсиреци. В допълнение към производството на активатори на плазминогена клетките LLC-PK1 произвеждат големи количества цитокератин. Това им свойство ги прави популярни за различни фармакологични и метаболитни изследвания.

Линията LLC-PK1 е използвана при изследвания на метаболизма, транспорта, токсичността и взаимодействието на лекарствата. Клетките LLC-PK1 също така често се използват за изследвания на пропускливостта. Механизмът на пренос на урацил се различава в зависимост от клетъчните линии, като в клетките Saco-2 има Na⁺-независима система на базалатералната мембрана, а в клетките LLC-PK1 - както Na⁺-зависима, така и Na⁺-независима система на апикалната мембрана.

В сравнение с други клетъчни линии LLC-PK1 клетките имат много общи характеристики на проксималните тубулни клетки *in vivo*, включително микровили на апикалната мембрана, висока активност на ензимите на апикалната мембрана и експресия на рецептори за паратироиден хормон и натрий-зависими глюкозни транспортери. Това превръща LLC-PK1 клетките в ценен инструмент за изследвания в областта на бъбречната токсикология. Друга клетъчна линия, често използвана в бъбречните токсикологични изследвания, е клетъчната линия MDCK. Подобно на LLC-PK1 клетките, MDCK клетките са епителни, но имат характеристики, които са по-типични за дисталните тубулни клетки.

Те експресират вазопресинови, окситоцинови и простагландинови рецептори, които при стимулиране активират аденилатциклазата. Клетъчните линии LLC-PK1 и MDCK се размножават бързо и могат лесно да бъдат пасирани в продължение на много поколения в монослойни култури. Клетките LLC-PK1 са способни да образуват "куполи", пълни с течност мехури в резултат на пренос на вода и разтворени вещества, тесни връзки и адхезия на клетките към субстрата.

В заключение, клетъчната линия LLC-PK1 е универсален и ценен инструмент за биомедицински изследвания. Тя е широко използвана в различни изследвания на лекарствения метаболизъм, лекарствения транспорт, лекарствената токсичност, взаимодействията между лекарствата, бъбречната токсикология и тестове за пропускливост. С добре установената си епителна морфология и производството на плазминогенен активатор и цитокератин клетките LLC-PK1 са идеален модел за епителна тъкан.

Organism Sus Scrofa

Tissue Бъбреци

Клетки LLC-PK1 | 607264

Applications Метаболизъм на лекарствата, тестове за пропускливост, токсичност и изследвания на взаимодействието.

Synonyms LLC-PK(1), LLC-PK-1, LLC PK-1, Llc-PK1, LLC PK1, LLCPK1, Лаборатории Лили Клетъчен бъбрек на свинята 1

Характеристики

Breed/Subspecies Хемпшир

Age 3-4 седмици

Gender Мъжки

Morphology Подобни на епител

Growth properties Прилепване/суспензия. Необходими са няколко дни, докато клетките се превърнат в колонии.

Регулаторни данни

Citation LLC-PK1 (каталожен номер 607264 на Cytion)

Biosafety level Клетъчната линия съдържа секвенции и транскрипти на Свински онковирус тип С (PCOV). Начинът на инфектиране не е определен и не може да се изключи отделянето на вируса. В Германия тези вируси са класифицирани като BSL 1 за хора и BSL 2 за животни (TRBA 462). Въпреки това Германският централен комитет по биологична безопасност (ZKBS) класифицира тези вируси и заразени клетъчни линии като BSL 2 за приложения за генетично модифициране.

NCBI_TaxID 9823

CellosaurusAccession CVCL_0391

Биомолекулярни данни

Viruses Съдържа секвенции и транскрипти на свински онковирус тип С (PCOV). Експресията на вируса не може да бъде изключена.

Products Активатор на плазминогена

Работа с

Клетки LLC-PK1 | 607264

Culture Medium Среда 199, w: 2,7 mM стабилен глутамин, w: 2,2 g/L NaHCO₃, w: EBSS (номер на статията в Cytion 820101a)

Supplements Допълнете средата с 3% FBS

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Съберете суспендираните клетки в 15-милилитрова епруветка и внимателно промийте прилепналите клетки с PBS без калций и магнезий (използвайте 3-5 ml за колби T25 и 5-10 ml за колби T75). Нанесете Accutase (1-2 ml за колби T25 и 2,5 ml за колби T75), като се уверите, че покрива изцяло клетъчния слой. Оставете клетките да се инкубират на стайна температура за 10 минути. След инкубацията комбинирайте и центрофугирайте суспензията и адхезивните клетки. След центрофугирането внимателно ресуспендирайте клетъчната пелета и прехвърлете клетъчната суспензия в нови колби, съдържащи свежа среда.

Seeding density 1 до 3×10^6 клетки/cm²

Fluid renewal На всеки 3 дни

Post-Thaw Recovery След размразяване, поставете клетките в плаки с плътност 5×10^4 клетки/cm² и оставете клетките да се възстановят от процеса на замразяване и да се прикрепят за най-малко 24 часа.

Freeze medium Като среда за криоконсервация използваме пълна среда за растеж (включително FBS) + 10% DMSO за адекватна жизнеспособност след размразяване или CM-1 (каталожен номер 800100 на Cytion), която включва оптимизирани осмопротектори и метаболитни стабилизатори за подобряване на възстановяването и намаляване на криоиндуцирания стрес.

Клетки LLC-PK1 | 607264

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Уверете се, че флаконът остава дълбоко замразен при доставката, тъй като клетките се транспортират със сух лед, за да се поддържат оптимални температури по време на транспортирането.
2. При получаване или съхранявайте незабавно криовиолата при температури под $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, за да осигурите запазване на клетъчната цялост, или преминете към стъпка 3, ако е необходимо незабавно култивиране.
3. За незабавно култивиране бързо размразете флакона, като го потопите във водна баня с чиста вода и антимикуробен агент с температура $37\text{ }^{\circ}\text{C}$, като разбърквате внимателно в продължение на 40-60 секунди, докато остане малка ледена бучка.
4. Извършвайте всички следващи стъпки при стерилни условия в аспиратор, като преди отваряне дезинфекцирате криовиолата със 70% етанол.
5. Внимателно отворете дезинфекцирания флакон и прехвърлете клетъчната суспензия в 15 ml центрофужна епруветка, съдържаща 8 ml хранителна среда със стайна температура, като разбърквате внимателно.
6. Центрофугирайте сместа при 300 x g в продължение на 3 минути, за да отделите клетките, и внимателно изхвърлете супернатантата, съдържаща остатъчна замразяваща среда.
7. Внимателно ресуспендирайте клетъчната пелета в 10 ml прясна хранителна среда. За адхезивни клетки разделете суспензията между две колби T25; за суспензионни култури прехвърлете цялата среда в една колба T25, за да стимулирате ефективното взаимодействие и растеж на клетките.
8. Придържайте се към установените протоколи за субкултивиране за непрекъснат растеж и поддържане на клетъчната линия, като гарантирате надеждни експериментални резултати.

**Incubation
Atmosphere**

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , овлажнена атмосфера.

Flask Coating

Няма

**Freezing
Procedure**

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

Клетки LLC-PK1 | 607264

Shipping Conditions

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително -78°C по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

Storage Conditions

За дълготрайно съхранение поставете флаконите в течен азот в парна фаза при температура около -150 до -196°C . Съхранението при -80°C е приемливо само като кратък междинен етап преди прехвърлянето в течен азот.

Контрол на качеството / Генетичен профил / HLA

Sterility

Замърсяването с микоплазма се изключва както чрез PCR-базирани анализи, така и чрез луминесцентни методи за откриване на микоплазма.

За да се гарантира, че няма бактериално, гъбично или дрождево замърсяване, клетъчните култури се подлагат на ежедневни визуални проверки.