

Buňky LLC-PK1 | 607264**Obecné informace****Description**

Buňky LLC-PK1 jsou dobře zavedenou a široce používanou buněčnou linií v biomedicíně výzkumu. Tyto buňky byly odvozeny ze zdravé prasečí ledviny samčího pohlaví a vykazují typickou epiteliální morfologii. Linie LLC-PK1 je polarizovaná a obsahuje těsné spoje, což z ní činí ideální model epiteliální tkáně.

Jednou z kritických vlastností buněk LLC-PK1 je jejich schopnost produkovat aktivátor plazminogenu, látku, která stimuluje fibrinolýzu. Díky této vlastnosti jsou buňky LLC-PK1 zvláště cenné ve výzkumu trombózy.

V posledních letech je aktivátor plazminogenu součástí léků používaných při léčbě trombózy, protože usnadňuje rozpouštění malých krevních sraženin. Kromě produkce aktivátorů plazminogenu produkují buňky LLC-PK1 velké množství cytokeratinu. Díky této vlastnosti se staly oblíbenými pro různá farmakologická a metabolická výzkumná šetření.

Linie LLC-PK1 byla použita při studiu metabolismu, transportu, toxicity a interakcí léčiv. Buňky LLC-PK1 se také často používají při testech propustnosti. Mechanismus transportu uracilu se liší v závislosti na buněčných liniích, přičemž u buněk Caco-2 se jedná o systém nezávislý na Na⁺ na bazolaterální membráně a u buněk LLC-PK1 o systém závislý na Na⁺ i nezávislý na Na⁺ na apikální membráně.

Ve srovnání s ostatními buněčnými liniemi mají buňky LLC-PK1 mnoho společných znaků proximálních tubulárních buněk in vivo, včetně mikrovilů apikální membrány, vysoké aktivity enzymů apikální membrány a exprese receptorů pro parathormon a glukózových transportérů závislých na sodíku. Díky tomu jsou buňky LLC-PK1 cenným nástrojem při studiu toxicity ledvin. Další buněčnou linií běžně používanou ve studiích toxicity ledvin je buněčná linie MDCK. Stejně jako buňky LLC-PK1 jsou buňky MDCK epiteliální, ale mají vlastnosti typické spíše pro distální tubulární buňky.

Exprimují receptory pro vazopresin, oxytocin a prostaglandiny, které po stimulaci aktivují adenylátcyklázu. Buněčné linie LLC-PK1 a MDCK se rychle množí a mohou být snadno pasážovány po mnoho generací v jednovrstvých kulturách. Buňky LLC-PK1 jsou také schopny vytvářet "kopule", puchýře naplněné tekutinou, které jsou výsledkem transportu vody a rozpuštěných látek, těsných spojů a adheze buněk k substrátu.

Závěrem lze říci, že buněčná linie LLC-PK1 je všestranným a cenným nástrojem pro biomedicínský výzkum. Byla široce využívána v různých studiích metabolismu léčiv, transportu léčiv, toxicity léčiv, interakcí mezi léčivy, renální toxikologie a testů permeability. Díky dobře zavedené epiteliální morfologii a produkci aktivátoru plazminogenu a cytokeratinu jsou buňky LLC-PK1 ideálním modelem epiteliální tkáně.

Organism Sus Scrofa**Tissue** Ledviny**Applications** Metabolismus léčiv, testy propustnosti, toxicita a interakční studie.**Synonyms** LLC-PK(1), LLC-PK-1, LLC PK-1, Llc-PK1, LLC PK1, LLCPK1, Lilly Laboratories Cell-Porcine Kidney 1**Charakteristika****Breed/Subspecies** Hampshire

Buňky LLC-PK1 | 607264**Age** 3-4 týdny**Gender** Muži**Morphology** Epitelu podobné**Growth properties** Přilnavost/suspenze. Trvá několik dní, než se buňky rozrostou do adherentních kolonií.**Regulační údaje****Citation** LLC-PK1 (katalogové číslo Cytion 607264)**Biosafety level** Buněčná linie obsahuje sekvence a transkripty onkoviru prasat typu C (PCOV). Způsob infekce není určen a nelze vyloučit vylučování viru. V Německu jsou tyto viry klasifikovány jako BSL 1 pro lidi a BSL 2 pro zvířata (TRBA 462). Německý ústřední výbor pro biologickou bezpečnost (ZKBS) však tyto viry a infikované buněčné linie klasifikuje jako BSL 2 pro aplikace genetických modifikací.**NCBI_TaxID** 9823**CellosaurusAccession** CVCL_0391**Biomolekulární data****Viruses** Obsahuje sekvence a transkripty prasečího onkoviru typu C (PCOV). Expresi viru nelze vyloučit.**Products** Aktivátor plazminogenu**Zpracování****Culture Medium** Médium 199, w: 2,7 mM stabilního glutaminu, w: 2,2 g/l NaHCO₃, w: EBSS (číslo článku Cytion 820101a)**Supplements** Doplněte médium 3% FBS**Dissociation Reagent** Accutase

Buňky LLC-PK1 | 607264

Subculturing Shromážděte suspenzi buněk do 15 ml zkumavky a jemně promyjte adherentní buňky PBS bez vápníku a hořčíku (použijte 3-5 ml pro baňky T25 a 5-10 ml pro baňky T75). Aplikujte Accutase (1-2 ml pro baňky T25, 2,5 ml pro baňky T75), abyste zajistili úplné pokrytí buněčné vrstvy. Nechte buňky inkubovat při pokojové teplotě po dobu 10 minut. Po inkubaci spojte a odstředte suspenzi i adherované buňky. Po odstředění opatrně resuspendujte buněčnou peletu a přeneste buněčnou suspenzi do nových baněk obsahujících čerstvé médium.

Split ratio Doporučuje se poměr 1:3 až 1:8

Seeding density 1 až 3×10^6 buněk/cm²

Fluid renewal Každé 3 dny

Post-Thaw Recovery Po rozmrazení naneste buňky v množství 5×10^4 buněk/cm² a nechte je alespoň 24 hodin zotavit se z procesu zmrazení a přilnout.

Freeze medium Jako kryokonzervační médium používáme kompletní růstové médium (včetně FBS) + 10 % DMSO pro zajištění dostatečné životaschopnosti po rozmrazení nebo CM-1 (katalogové číslo 800100 společnosti Cytion), které obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory pro zlepšení regenerace a snížení stresu způsobeného kryo.

Buňky LLC-PK1 | 607264

Thawing and Culturing Cells

1. Ověřte si, že lahvička zůstane při dodání hluboce zmrazená, protože buňky se přepravují na suchém ledu, aby se během přepravy udržely optimální teploty.
2. Po obdržení kryovialku buď okamžitě uložte při teplotě nižší než -150 °C, abyste zajistili zachování buněčné integrity, nebo přejděte ke kroku 3, pokud je nutná okamžitá kultivace.
3. Pro okamžitou kultivaci rychle rozmrazte lahvičku ponořením do vodní lázně o teplotě 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálním prostředkem a jemně ji míchejte po dobu 40-60 sekund, dokud nezůstane malý ledový chuchvalec.
4. Všechny další kroky provádějte za sterilních podmínek v průtokové digestoři a před otevřením kryovialku dezinfikujte 70% ethanolem.
5. Opatrně otevřete dezinfikovanou lahvičku a přeneste buněčnou suspenzi do 15 ml centrifugační zkumavky obsahující 8 ml kultivačního média o pokojové teplotě a jemně promíchejte.
6. Směs odstředujte při 300 x g po dobu 3 minut, aby se buňky oddělily, a supernatant obsahující zbytky mrazicího média opatrně zlikvidujte.
7. Pelety buněk jemně resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačního média. U adherentních buněk rozdělte suspenzi mezi dvě kultivační baňky T25; u suspenzních kultur přeneste veškeré médium do jedné baňky T25, abyste podpořili účinnou interakci a růst buněk.
8. Dodržujte zavedené subkultivační protokoly pro kontinuální růst a udržování buněčné linie, čímž zajistíte spolehlivé výsledky experimentů.

Incubation Atmosphere

37 °C, 5 % CO_2 , zvlhčená atmosféra.

Flask Coating

Žádný

Freezing Procedure

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

Shipping Conditions

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

Buňky LLC-PK1 | 607264

Storage Conditions

Pro dlouhodobé uchování umístěte lahvičky do kapalného dusíku v plynné fázi při teplotě přibližně -150 až -196 °C. Skladování při -80 °C je přijatelné pouze jako krátký přechodný krok před přemístěním do kapalného dusíku.

Kontrola kvality / Genetický profil / HLA

Sterility

Kontaminace mykoplazmaty je vyloučena jak pomocí testů založených na PCR, tak pomocí luminiscenčních metod detekce mykoplazmy.

Aby se zajistilo, že nedojde ke kontaminaci bakteriemi, plísněmi nebo kvasinkami, jsou buněčné kultury denně podrobovány vizuálním kontrolám.