

LLC-PK1-celler | 607264

Generel information

Description

LLC-PK1-celler er en veletableret og meget anvendt cellelinje i biomedicinsk forskning. Disse celler stammer fra en sund han-gris' nyre og udviser typisk epitelmorfologi. LLC-PK1-linjen er polariseret og indeholder tight junctions, hvilket gør den til en ideel model for epitelvæv.

Et af de kritiske træk ved LLC-PK1-celler er deres evne til at producere plasminogenaktivator, et stof, der stimulerer fibrinolyse. Denne egenskab har gjort LLC-PK1-celler særligt værdifulde inden for tromboseforskning.

I de senere år er plasminogenaktivator blevet inkluderet i lægemidler, der bruges i trombosebehandlinger, da det letter opløsningen af små blodpropper. Ud over at producere plasminogenaktivatorer producerer LLC-PK1-celler store mængder cytokeratin. Denne egenskab har gjort dem populære til forskellige farmakologiske og metaboliske forskningsundersøgelser.

LLC-PK1-linjen er blevet brugt i undersøgelser af lægemiddelmetabolisme, transport, toksicitet og interaktion. LLC-PK1-celler bruges også ofte i permeabilitetsanalyser. Mekanismen for uraciltransport er forskellig fra cellelinje til cellelinje, med et Na⁺-uafhængigt system på den basolaterale membran i Caco-2-celler og både Na⁺-afhængige og Na⁺-uafhængige systemer på den apikale membran i LLC-PK1-celler.

Sammenlignet med andre cellelinjer deler LLC-PK1-celler mange karakteristika ved proximale tubulære celler in vivo, herunder apikale membranmikrovilli, høje aktiviteter af apikale membranzymer og udtryk for parathyreoideahormonreceptorer og natriumafhængige glukosetransportører. Det gør LLC-PK1-celler til et værdifuldt værktøj i undersøgelser af nyretoksikologi. En anden cellelinje, der ofte bruges i nyretoksikologiske undersøgelser, er MDCK-cellelinjen. Ligesom LLC-PK1-celler er MDCK-celler epiteliale, men har egenskaber, der er mere typiske for distale tubulære celler.

De udtrykker vasopressin-, oxytocin- og prostaglandinreceptorer, som, når de stimuleres, aktiverer adenylatcyklase. LLC-PK1- og MDCK-cellelinjer formerer sig hurtigt og kan nemt overføres i mange generationer i monolayer-kulturer. LLC-PK1-celler er også i stand til at danne "kupper", væskefyldte blærer som følge af transport af vand og opløste stoffer, tight junctions og cellernes vedhæftning til underlaget.

Konklusionen er, at LLC-PK1-cellelinjen er et alsidigt og værdifuldt værktøj til biomedicinsk forskning. Den er blevet brugt i vid udstrækning i forskellige undersøgelser af lægemiddelmetabolisme, lægemiddeltransport, lægemiddeltoksicitet, interaktioner mellem lægemidler, nyretoksikologi og permeabilitetsanalyser. Med sin veletablerede epitelmorfologi og produktion af plasminogenaktivator og cytokeratin er LLC-PK1-celler en ideel model for epitelvæv.

Organism Sus Scrofa

Tissue Nyre

Applications Lægemiddelmetabolisme, permeabilitetsanalyser, toksicitet og interaktionsstudier.

Synonyms LLC-PK(1), LLC-PK-1, LLC PK-1, Llc-PK1, LLC PK1, LLCPK1, Lilly Laboratories Cell-Porcine Kidney 1

Karakteristika

LLC-PK1-celler | 607264

Breed/Subspecies Hampshire**Age** 3-4 uger**Gender** Mand**Morphology** Epitel-lignende**Growth properties** Vedhæftende**Regulatoriske data****Citation** LLC-PK1 (Cytion katalognummer 607264)**Biosafety level** Cellelinjen indeholder porcin type-C oncovirus (PCOV) sekvenser og transkripter. Infektionsmåden er ubestemt, og viral sekretion kan ikke udelukkes. I Tyskland er disse vira klassificeret som BSL 1 for mennesker og BSL 2 for dyr (TRBA 462). Den tyske centralkomité for biologisk sikkerhed (ZKBS) klassificerer dog disse vira og inficerede cellelinjer som BSL 2 til anvendelse i forbindelse med genetisk modifikation.**NCBI_TaxID** 9823**CellosaurusAccession** CVCL_0391**Biomolekylære data****Viruses** Indeholder porcin type-C oncovirus (PCOV) sekvenser og transkripter. Virusekspression kan ikke udelukkes.**Products** Plasminogen-aktivator**Håndtering****Culture Medium** Medium 199, w: 2,7 mM stabil glutamin, w: 2,2 g/L NaHCO₃, w: EBSS (Cytion artikelnummer 820101a)**Supplements** Suppler mediet med 3% FBS**Dissociation Reagent** Accutase

LLC-PK1-celler | 607264

Subculturing Saml de suspenderede celler i et 15 ml rør, og vask forsigtigt de klæbende celler med PBS uden calcium og magnesium (brug 3-5 ml til T25-kolber og 5-10 ml til T75-kolber). Påfør Accutase (1-2 ml til T25-kolber, 2,5 ml til T75-kolber) for at sikre fuld dækning af cellelaget. Lad cellerne inkubere ved stuetemperatur i 10 minutter. Efter inkubationen kombineres og centrifugeres både suspensionen og de vedhæftede celler. Efter centrifugering resuspenderes cellepelleten forsigtigt, og cellesuspensionen overføres til nye kolber, der indeholder frisk medium.

Seeding density 1 til 3×10^6 celler/cm²

Fluid renewal Hver 3. dag

Post-Thaw Recovery Efter optøning skal cellerne udplades med 5×10^4 celler/cm², og cellerne skal have lov til at komme sig efter frysningsprocessen og hæfte sig fast i mindst 24 timer.

Freeze medium Som kryopræservesmedium bruger vi komplet vækstmedium (inklusive FBS) + 10 % DMSO for tilstrækkelig levedygtighed efter optøning eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som indeholder optimerede osmoteskyttende stoffer og metaboliske stabilisatorer for at forbedre genopretningen og reducere kryo-induceret stress.

LLC-PK1-celler | 607264

Thawing and Culturing Cells

1. Bekræft, at hætteglasset forbliver dybfrosset ved levering, da cellerne sendes på tøris for at opretholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved modtagelsen skal du enten straks opbevare kryohætteglasset ved temperaturer under $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ for at sikre, at cellernes integritet bevares, eller gå videre til trin 3, hvis øjeblikkelig dyrkning er påkrævet.
3. Ved øjeblikkelig dyrkning optøs hætteglasset hurtigt ved at nedsænke det i et $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ varmt vandbad med rent vand og et antimikrobielt middel og røre forsigtigt i 40-60 sekunder, indtil der kun er en lille isklump tilbage.
4. Udfør alle efterfølgende trin under sterile forhold i en flowhætte, og desinficer kryovialet med 70 % ethanol, før det åbnes.
5. Åbn forsigtigt det desinficerede hætteglas, og overfør cellesuspensionen til et 15 ml centrifugerør, der indeholder 8 ml kulturmedium ved stuetemperatur, og bland forsigtigt.
6. Centrifuger blandingen ved $300 \times g$ i 3 minutter for at adskille cellerne, og kassér omhyggeligt supernatanten, der indeholder resterende frysemedium.
7. Resuspender forsigtigt cellepelleten i 10 ml frisk dyrkningsmedium. For klæbende celler deles suspensionen mellem to T25-kulturkolber; for suspensionskulturer overføres alt mediet til en T25-kolbe for at fremme effektiv celleinteraktion og -vækst.
8. Overhold etablerede subkulturprotokoller for fortsat vækst og vedligeholdelse af cellelinjen, hvilket sikrer pålidelige eksperimentelle resultater.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , befugtet atmosfære.

Flask Coating

Ingen

Freezing Procedure

Kryopræservede cellelinjer sendes på tøris i valideret, isoleret emballage med tilstrækkeligt kølemiddel til at opretholde ca. $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hele transporten. Ved modtagelse skal beholderen straks inspiceres, og hætteglassene skal straks overføres til passende opbevaring.

Shipping Conditions

Kryopræservede cellelinjer sendes på tøris i valideret, isoleret emballage med tilstrækkeligt kølemiddel til at opretholde ca. $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hele transporten. Ved modtagelse skal beholderen straks inspiceres, og hætteglassene skal straks overføres til passende opbevaring.

LLC-PK1-celler | 607264

**Storage
Conditions**

For langtidsopbevaring anbringes hætteglas i flydende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Opbevaring ved -80 °C er kun acceptabelt som et kort mellemtrin før overførsel til flydende nitrogen.

Kvalitetskontrol / Genetisk profil / HLA

Sterility

Mycoplasma-kontaminering udelukkes ved hjælp af både PCR-baserede assays og luminescensbaserede mycoplasma-detektionsmetoder.

For at sikre, at der ikke er nogen bakterie-, svampe- eller gærforurening, underkastes cellekulturerne daglige visuelle inspektioner.