

LLC-PK1 rakud | 607264

Üldine teave

Description

LLC-PK1 rakud on biomeditsiinilistes uuringutes hästi tuntud ja laialdaselt kasutatav rakuliin. Need rakud on saadud terve isase sea neerudest, millel on tüüpiline epiteeli morfoloogia. LLC-PK1 liin on polariseeritud ja sisaldab tihedaid ühendusi, mis muudab selle ideaalseks epiteelkoe mudeliks.

LLC-PK1 rakkude üks kriitilisi omadusi on nende võime toota plasminogeeni aktivaatorit, mis stimuleerib fibrinolüüsi. See omadus on muutnud LLC-PK1 rakud eriti väärtuslikuks tromboosiuuringutes.

Viimastel aastatel on plasminogeeni aktivaator lisatud tromboosiravis kasutatavate ravimite hulka, kuna see hõlbustab väikeste verehüüvete lahustamist. Lisaks plasminogeeni aktivaatorite tootmisele toodavad LLC-PK1 rakud suures koguses tsütokeratiini. See omadus on muutnud nad populaarseks erinevate farmakoloogiliste ja ainevahetuse uuringute jaoks.

LLC-PK1 liini on kasutatud ravimite metabolismi, transpordi, toksilisuse ja koostoime uuringutes. LLC-PK1 rakke kasutatakse sageli ka läbilaskvusuringutes. Uratsiili transportimise mehhanism erineb sõltuvalt rakuliinist, kusjuures Caco-2 rakkudel on basolateraalsel membraanil Na⁺-independentne süsteem ja LLC-PK1 rakkudel nii Na⁺- sõltuv kui ka Na⁺-independentne süsteem apikaalsel membraanil.

Võrreldes teiste rakuliinidega on LLC-PK1 rakkudel mitmeid proksimaalsete tubulaarsete rakkude omadusi in vivo, sealhulgas apikaalmembraani mikrovillide, apikaalmembraani ensüümide kõrge aktiivsus ning parathormooni retseptorite ja naatriumisõltuvate glükoositransporterite ekspressioon. See muudab LLC-PK1 rakud väärtuslikuks vahendiks neerutoksikoloogilistes uuringutes. Teine rakuliin, mida tavaliselt kasutatakse neerutoksikoloogia uuringutes, on MDCK rakuliin. Nagu LLC-PK1 rakud, on ka MDCK rakud epiteelirakud, kuid nende omadused on iseloomulikud distaalsetele tubulaarsetele rakkudele.

Nad ekspresseerivad vasopressiini, oksütotsiini ja prostaglandiini retseptoreid, mis stimuleerimisel aktiveerivad adenülaatsüklaasi. LLC-PK1 ja MDCK rakuliinid paljunevad kiiresti ja neid saab monokihilistes kultuurides kergesti paljundada paljude põlvkondade kaupa. LLC-PK1 rakud on samuti võimelised moodustama "kupleid", vedelikuga täidetud villid, mis tulenevad vee ja lahustunud ainete transpordist, tihedatest ühendustest ja rakkude adhesiivsusest substraadi külge.

Kokkuvõttes on LLC-PK1 rakuliin mitmekülgne ja väärtuslik vahend biomeditsiiniliste uuringute jaoks. Seda on laialdaselt kasutatud mitmesugustes uuringutes, mis käsitlevad ravimite metabolismi, ravimite transporti, ravimite toksilisust, ravimite ja ravimite vastastikmõju, neerutoksikoloogiat ja läbilaskvusuringuid. LLC-PK1 rakud on tänu oma väljakujunenud epiteeli morfoloogiale ning plasminogeeni aktivaatori ja tsütokeratiini tootmisele ideaalne mudel epiteelkoe jaoks.

Organism Sus Scrofa

Tissue Neerud

Applications Ravimite metabolism, läbilaskvusuringud, toksilisuse ja koostoimete uuringud.

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

Omadused

LLC-PK1 rakud | 607264

Breed/Subspecies	Hampshire
Age	3-4 nädalat
Gender	Mees
Morphology	Epiteelilaadsed
Growth properties	Kinni jääv/suspensioon. Kulub paar päeva, kuni rakud kasvavad adherentseteks kolooniadeks.

Regulatiivsed andmed

Citation	LLC-PK1 (Cytioni katalooginumber 607264)
Biosafety level	Rakuliin sisaldab sigade C-tüüpi onkoviiruse (PCOV) järjestusi ja transkripte. Nakatumisviis on määramata ja viiruse sekretsiooni ei saa välistada. Saksamaal on need viirused klassifitseeritud inimeste puhul BSL 1 ja loomade puhul BSL 2 kategooriasse (TRBA 462). Saksamaa bioloogilise ohutuse keskkomitee (ZKBS) klassifitseerib need viirused ja nakatunud rakuliinid siiski BSL 2-sse geneetilise muundamise rakenduste puhul.
NCBI_TaxID	9823
CellosaurusAccession	CVCL_0391

Biomolekulaarsed andmed

Viruses	Sisaldab sigade C-tüüpi onkoviiruse (PCOV) järjestusi ja transkripte. Viiruse ekspressiooni ei saa välistada.
Products	Plasminogeeni aktivaator

Töötlemine

Culture Medium	Keskkond 199, w: 2,7 mM stabiilne glutamiin, w: 2,2 g/L NaHCO ₃ , w: EBSS (Cytioni artikli number 820101a)
Supplements	Täiendada keskkonda 3% FBS-ga
Dissociation Reagent	Accutase

LLC-PK1 rakud | 607264

Subculturing Koguge suspensioonirakud 15 ml tuubi ja peske kleepunud rakud ettevaatlikult PBS-ga, milles puudub kaltsium ja magneesium (kasutage 3-5 ml T25 kolbide puhul ja 5-10 ml T75 kolbide puhul). Kandke Accutase'i (1-2 ml T25 kolvidesse, 2,5 ml T75 kolvidesse), tagades rakukihi täieliku katvuse. Laske rakkudel 10 minutit toatemperatuuril inkubeerida. Pärast inkubeerimist ühendage ja tseentrifuugige nii suspensioon kui ka adherentsed rakud. Pärast tseentrifuugimist resuspendeerige rakupellet ettevaatlikult ja kandke rakususpensioon uutesse kolvidesse, mis sisaldavad värsket söötmeainet.

Seeding density 1 kuni 3×10^6 rakku/cm²

Fluid renewal Iga 3 päeva tagant

Post-Thaw Recovery Pärast sulatamist asetage rakud plaadile tihedusega 5×10^4 rakku/cm² ja laske rakkudel külmutamisprotsessist taastuda ja kinnituda vähemalt 24 tunni jooksul.

Freeze medium Krüosäilitusvedelikusena kasutame täielikku kasvukeskkonda (sh FBS) + 10% DMSO, et tagada piisav elujõulisus pärast sulatamist, või CM-1 (Cytioni katalooginumber 800100), mis sisaldab optimeeritud osmoprotektante ja metaboolseid stabilisaatoreid, et parandada taastumist ja vähendada krüostressi.

LLC-PK1 rakud | 607264

Thawing and Culturing Cells

1. Veenduge, et vial jääb tarnimisel sügavkülmutatud, sest rakud transporditakse kuiva jääga, et säilitada optimaalne temperatuur transpordi ajal.
2. Pärast kättesaamist säilitage krüoviaal kas kohe temperatuuril alla $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, et tagada rakkude terviklikkuse säilimine, või jätkake sammuga 3, kui on vaja koheselt kultiveerida.
3. Kohese kultiveerimise korral sulatage viali kiiresti, kastes selle $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ veevanni puhta vee ja antimikroobse ainega, segades seda õrnalt 40-60 sekundit, kuni alles jääb väike jääklomp.
4. Tehke kõik järgmised toimingud steriilsetes tingimustes vooluhoodis, desinfitseerides krüoviaal enne avamist 70% etanooliga.
5. Avage desinfitseeritud viali ettevaatlikult ja viige raku suspensioon ettevaatlikult segades 15 ml tsentrifuugitorusse, mis sisaldab 8 ml toatemperatuuril olevat kasvukeskkonda.
6. Rakkude eraldamiseks tsentrifuugige segu $300 \times g$ juures 3 minutit ja visake ülejäänud külmutusvedelikku sisaldav supernatant ettevaatlikult ära.
7. Resuspendeerige rakupellet ettevaatlikult 10 ml värskes kasvukeskkonnas. Adhereerivate rakkude puhul jagage suspensioon kahe T25 kultuurkolvi vahel; suspensioonikultuuride puhul kandke kogu söötme keskkond ühte T25 kolbi, et soodustada rakkude tõhusat koostoimet ja kasvu.
8. Järgige kehtestatud subkultuuriprotokolle rakuliini jätkuvaks kasvuks ja säilitamiseks, tagades usaldusväärsed katsetulemused.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , niisutatud atmosfäär.

Flask Coating

Puudub

Freezing Procedure

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

Shipping Conditions

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

LLC-PK1 rakud | 607264

**Storage
Conditions**

Pikaajaliseks säilitamiseks asetage viaalid aurufaasis vedela lämmastikuga umbes -150 kuni -196 °C juures. Säilitamine temperatuuril -80 °C on vastuvõetav ainult lühikese vaheetapina enne vedela lämmastikuga üleviimist.

Kvaliteedikontroll / Geneetiline profiil / HLA

Sterility

Mükoplasmakontaminatsioon on välistatud nii PCR-põhiste analüüside kui ka luminesentsil põhinevate mükoplasma tuvastamise meetodite abil.

Bakteriaalse, seene- või pärmsaaste puudumise tagamiseks kontrollitakse rakukultuure iga päev visuaalselt.