

## Cellule LLC-PK1 | 607264

## Informazioni generali

## Description

Le cellule LLC-PK1 sono una linea cellulare ben consolidata e ampiamente utilizzata nella ricerca biomedica. Queste cellule sono state derivate dal rene di un maiale maschio sano e presentano la tipica morfologia epiteliale. La linea LLC-PK1 è polarizzata e contiene giunzioni strette, il che la rende un modello ideale di tessuto epiteliale.

Una delle caratteristiche fondamentali delle cellule LLC-PK1 è la loro capacità di produrre attivatore del plasminogeno, una sostanza che stimola la fibrinolisi. Questa proprietà ha reso le cellule LLC-PK1 particolarmente preziose nella ricerca sulla trombosi.

Negli ultimi anni, l'attivatore del plasminogeno è stato incluso nei farmaci utilizzati nelle terapie per la trombosi, poiché facilita la dissoluzione di piccoli coaguli di sangue. Oltre a produrre attivatori del plasminogeno, le cellule LLC-PK1 producono grandi quantità di citocheratina. Questa caratteristica le ha rese popolari per varie ricerche farmacologiche e metaboliche.

La linea LLC-PK1 è stata utilizzata per studi sul metabolismo, il trasporto, la tossicità e l'interazione dei farmaci. Le cellule LLC-PK1 sono anche spesso utilizzate nei saggi di permeabilità. Il meccanismo di trasporto dell'uracile varia a seconda delle linee cellulari, con un sistema Na<sup>+</sup>-indipendente sulla membrana basolaterale nelle cellule Caco-2 e sistemi Na<sup>+</sup>-dipendenti e Na<sup>+</sup>-indipendenti sulla membrana apicale nelle cellule LLC-PK1.

Rispetto ad altre linee cellulari, le cellule LLC-PK1 condividono molte caratteristiche delle cellule tubulari prossimali in vivo, tra cui i microvilli della membrana apicale, le elevate attività degli enzimi della membrana apicale e l'espressione dei recettori dell'ormone paratiroidale e dei trasportatori di glucosio sodio-dipendenti. Ciò rende le cellule LLC-PK1 uno strumento prezioso negli studi di tossicologia renale. Un'altra linea cellulare comunemente utilizzata negli studi di tossicologia renale è la linea cellulare MDCK. Come le cellule LLC-PK1, le cellule MDCK sono epiteliali ma presentano caratteristiche più tipiche delle cellule tubulari distali.

Esprimono recettori per la vasopressina, l'ossitocina e le prostaglandine che, se stimolati, attivano l'adenilato ciclasi. Le linee cellulari LLC-PK1 e MDCK proliferano rapidamente e possono essere passate facilmente per molte generazioni in colture monostrato. Le cellule LLC-PK1 sono anche in grado di formare "cupole", vesciche piene di fluido derivanti dal trasporto di acqua e soluti, dalle giunzioni strette e dall'adesione delle cellule al substrato.

In conclusione, la linea cellulare LLC-PK1 è uno strumento versatile e prezioso per la ricerca biomedica. È stata ampiamente utilizzata in vari studi sul metabolismo dei farmaci, sul loro trasporto, sulla tossicità dei farmaci, sulle interazioni farmaco-farmaco, sulla tossicologia renale e sui saggi di permeabilità. Grazie alla sua morfologia epiteliale ben consolidata e alla produzione di attivatore del plasminogeno e citocheratina, le cellule LLC-PK1 sono un modello ideale di tessuto epiteliale.

**Organism** Sus Scrofa

**Tissue** Rene

**Applications** Metabolismo dei farmaci, saggi di permeabilità, tossicità e studi di interazione.

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

## Cellule LLC-PK1 | 607264

## Caratteristiche

<b>Breed/Subspecies</b>	Hampshire
<b>Age</b>	3-4 settimane
<b>Gender</b>	Uomo
<b>Morphology</b>	Simile all'epitelio
<b>Growth properties</b>	Aderente

## Dati normativi

<b>Citation</b>	LLC-PK1 (numero di catalogo Cytion 607264)
<b>Biosafety level</b>	La linea cellulare contiene sequenze e trascrizioni di Porcine type-C oncovirus (PCOV). La modalità di infezione è indeterminata e non si può escludere la secrezione virale. In Germania, questi virus sono classificati come BSL 1 per l'uomo e BSL 2 per gli animali (TRBA 462). Tuttavia, il Comitato centrale tedesco per la sicurezza biologica (ZKBS) classifica questi virus e le linee cellulari infette come BSL 2 per le applicazioni di modificazione genetica.
<b>NCBI_TaxID</b>	9823
<b>CellosaurusAccession</b>	CVCL_0391

## Dati biomolecolari

<b>Viruses</b>	Contiene sequenze e trascritti di oncovirus porcino di tipo C (PCOV). Non si può escludere l'espressione del virus.
<b>Products</b>	Attivatore del plasminogeno

## Manipolazione

<b>Culture Medium</b>	Terreno 199, w: 2,7 mM di glutammina stabile, w: 2,2 g/L NaHCO <sub>3</sub> , w: EBSS (articolo Cytion numero 820101a)
<b>Supplements</b>	Integrare il terreno di coltura con il 3% di FBS

## Cellule LLC-PK1 | 607264

**Dissociation Reagent** Accutase

**Subculturing** Raccogliere le cellule in sospensione in una provetta da 15 ml e lavare delicatamente le cellule aderenti con PBS privo di calcio e magnesio (utilizzare 3-5 ml per le fiasche T25 e 5-10 ml per le fiasche T75). Applicare Accutase (1-2 ml per le beute T25, 2,5 ml per le beute T75) assicurando la copertura completa dello strato cellulare. Lasciare incubare le cellule a temperatura ambiente per 10 minuti. Dopo l'incubazione, unire e centrifugare sia la sospensione che le cellule aderenti. Dopo la centrifugazione, risospendere accuratamente il pellet cellulare e trasferire la sospensione cellulare in nuove fiasche contenenti terreno fresco.

**Split ratio** Si consiglia un rapporto da 1:3 a 1:8

**Seeding density** Da 1 a  $3 \times 10^6$  cellule/cm<sup>2</sup>

**Fluid renewal** Ogni 3 giorni

**Post-Thaw Recovery** Dopo lo scongelamento, piastrare le cellule a  $5 \times 10^4$  cellule/cm<sup>2</sup> e lasciare che le cellule si riprendano dal processo di congelamento e aderiscano per almeno 24 ore.

**Freeze medium** Come terreno di crioconservazione, utilizziamo un terreno di crescita completo (incluso FBS) + 10% DMSO per un'adeguata vitalità post-scongelamento, o CM-1 (numero di catalogo Cytion 800100), che include osmoprotettori e stabilizzatori metabolici ottimizzati per migliorare il recupero e ridurre lo stress crio-indotto.

## Cellule LLC-PK1 | 607264

### Thawing and Culturing Cells

1. Verificare che la fiala rimanga profondamente congelata al momento della consegna, poiché le cellule vengono spedite con ghiaccio secco per mantenere le temperature ottimali durante il trasporto.
2. Al ricevimento, conservare immediatamente la criovial a temperature inferiori a -150°C per garantire la conservazione dell'integrità cellulare, oppure procedere al punto 3 se è necessaria una coltura immediata.
3. Per la coltura immediata, scongelare rapidamente la fiala immergendola in un bagno d'acqua a 37°C con acqua pulita e un agente antimicrobico, agitando delicatamente per 40-60 secondi finché non rimane un piccolo grumo di ghiaccio.
4. Eseguire tutte le fasi successive in condizioni di sterilità in una cappa a flusso, disinfettando la criovial con etanolo al 70% prima dell'apertura.
5. Aprire con cautela la fiala disinfettata e trasferire la sospensione cellulare in una provetta da centrifuga da 15 ml contenente 8 ml di terreno di coltura a temperatura ambiente, mescolando delicatamente.
6. Centrifugare la miscela a 300 x g per 3 minuti per separare le cellule e scartare con cura il surnatante contenente il terreno di coltura residuo.
7. Risospendere delicatamente il pellet cellulare in 10 ml di terreno di coltura fresco. Per le cellule aderenti, dividere la sospensione tra due fiasche di coltura T25; per le colture in sospensione, trasferire tutto il terreno in una fiasca T25 per promuovere l'interazione e la crescita delle cellule.
8. Attenersi ai protocolli di subcoltura stabiliti per la crescita e il mantenimento continui della linea cellulare, garantendo risultati sperimentali affidabili.

### Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO<sub>2</sub>, atmosfera umidificata.

### Flask Coating

Nessuno

### Freezing Procedure

Le linee cellulari crioconservate vengono spedite su ghiaccio secco in confezioni isolate e convalidate, con una quantità di refrigerante sufficiente a mantenere circa -78 °C durante il trasporto. Al ricevimento, ispezionare immediatamente il contenitore e trasferire immediatamente le fiale in un luogo di conservazione appropriato.

### Shipping Conditions

Le linee cellulari crioconservate vengono spedite su ghiaccio secco in confezioni isolate e convalidate, con una quantità di refrigerante sufficiente a mantenere circa -78 °C durante il trasporto. Al ricevimento, ispezionare immediatamente il contenitore e trasferire immediatamente le fiale in un luogo di conservazione appropriato.

## Cellule LLC-PK1 | 607264

### Storage Conditions

Per la conservazione a lungo termine, porre le fiale in azoto liquido in fase vapore a una temperatura compresa tra -150 e -196 °C circa. La conservazione a -80 °C è accettabile solo come breve fase intermedia prima del trasferimento in azoto liquido.

## Controllo di qualità / Profilo genetico / HLA

### Sterility

La contaminazione da micoplasma viene esclusa utilizzando sia saggi basati sulla PCR sia metodi di rilevamento del micoplasma basati sulla luminescenza.

Per garantire l'assenza di contaminazione batterica, fungina o da lieviti, le colture cellulari sono sottoposte a ispezioni visive quotidiane.