

## LLC-PK1 šūnas | 607264

## Vispārīga informācija

## Description

LLC-PK1 šūnas ir labi pazīstama un plaši izmantota šūnu līnija biomedicīnas pētījumos. Šīs šūnas tika iegūtas no veselas cūkas vīrieša nierēs ar tipisku epitēlija morfoloģiju. LLC-PK1 līnija ir polarizēta un satur ciešus savienojumus, padarot to par ideālu epitēlija audu modeli.

Viena no būtiskākajām LLC-PK1 šūnu īpašībām ir to spēja ražot plazminogēna aktivatoru - vielu, kas stimulē fibrinolīzi. Šī īpašība ir padarījusi LLC-PK1 šūnas īpaši vērtīgas trombozes pētījumos.

Pēdējos gados plazminogēna aktivators ir iekļauts medikamentos, ko izmanto trombozes terapijā, jo tas atvieglo nelielu asins recekļu šķīdināšanu. Papildus plazminogēna aktivatoru ražošanai LLC-PK1 šūnas ražo lielu daudzumu citokeratīna. Šī īpašība ir padarījusi tās populāras dažādos farmakoloģiskos un metaboliskos pētījumos.

LLC-PK1 līnija ir izmantota zāļu metabolisma, transporta, toksicitātes un mijiedarbības pētījumos. LLC-PK1 šūnas bieži izmanto arī caurlaidības testos. Uracila transporta mehānisms atšķiras atkarībā no šūnu līnijām - Caco-2 šūnās ir no Na<sup>+</sup> neatkarīga sistēma uz bazolaterālās membrānas, bet LLC-PK1 šūnās ir gan no Na<sup>+</sup> atkarīga, gan no Na<sup>+</sup> neatkarīga sistēma uz apikālās membrānas.

Salīdzinot ar citām šūnu līnijām, LLC-PK1 šūnām ir daudzas proksimālo kanāliņu šūnu īpašības in vivo, tostarp apikālās membrānas mikrovilas, augsta apikālās membrānas enzīmu aktivitāte un paratireoidhormona receptoru un nātrija atkarīgo glikozes transportieru ekspresija. Tas padara LLC-PK1 šūnas par vērtīgu līdzekli nieru toksikoloģijas pētījumos. Cita šūnu līnija, ko parasti izmanto nieru toksikoloģijas pētījumos, ir MDCK šūnu līnija. Tāpat kā LLC-PK1 šūnas, arī MDCK šūnas ir epitēlija šūnas, bet tām ir raksturīgākas distālo kanāliņu šūnu īpašības.

Tās ekspresē vazopresīna, oksitocīna un prostaglandīnu receptorus, kas stimulēti aktivē adenilātciklāzi. LLC-PK1 un MDCK šūnu līnijas strauji vairojas, un tās var viegli pasažēt daudzās paaudzēs monoslāņa kultūrās. LLC-PK1 šūnas spēj arī veidot "kupolus", ar šķīdumu piepildītus pūslīšus, kas veidojas ūdens un izšķīdušo vielu transporta, ciešo savienojumu un šūnu adhēzijas ar substrātu rezultātā.

Tātad LLC-PK1 šūnu līnija ir daudzpusīgs un vērtīgs instruments biomedicīniskajiem pētījumiem. Tā ir plaši izmantota dažādos zāļu metabolisma, zāļu transporta, zāļu toksicitātes, zāļu un zāļu mijiedarbības, nieru toksikoloģijas un caurlaidības testos. LLC-PK1 šūnas ar labi izveidotu epitēlija morfoloģiju un plazminogēna aktivatora un citokeratīna produkciju ir ideāls epitēlija audu modelis.

**Organism** Sus Scrofa

**Tissue** Nieres

**Applications** Zāļu metabolisms, caurlaidības testi, toksicitātes un mijiedarbības pētījumi.

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

## Raksturojums

**Breed/Subspecies** Hempšira

## LLC-PK1 šūnas | 607264

**Age** 3-4 nedēļas

**Gender** Vīrieši

**Morphology** Epiēlījveidīgs

**Growth properties** Adherent

## Normatīvie dati

**Citation** LLC-PK1 (Cytion kataloga numurs 607264)

**Biosafety level** Šūnu līnija satur C tipa cūku onkovīrusa (PCOV) sekvenču un transkriptus. Inficēšanās veids nav noteikts, un nevar izslēgt vīrusa sekrēciju. Vācijā šie vīrusi ir klasificēti kā BSL 1 cilvēkiem un BSL 2 dzīvniekiem (TRBA 462). Tomēr Vācijas Centrālā bioloģiskās drošības komiteja (ZKBS) klasificē šos vīrusus un inficētās šūnu līnijas kā BSL 2 ģenētiskās modifikācijas lietojumiem.

**NCBI\_TaxID** 9823

**CellosaurusAccession** CVCL\_0391

## Biomolekulārie dati

**Viruses** Satur C tipa cūku onkovīrusa (PCOV) sekvenču un transkripcijas. Vīrusa ekspresiju nevar izslēgt.

**Products** Plazminogēna aktivators

## Darbs ar

**Culture Medium** Barotne 199, w: 2,7 mM stabils glutamīns, w: 2,2 g/L NaHCO<sub>3</sub>, w: EBSS (Cytion izstrādājuma numurs 820101a)

**Supplements** Papildināt barotni ar 3% FBS

**Dissociation Reagent** Accutase

**LLC-PK1 šūnas | 607264**

**Subculturing** Savāc suspensijas šūnas 15 ml mēģenē un saudzīgi izmazgā pielipušās šūnas ar PBS bez kalcija un magnija (T25 kolbām izmanto 3-5 ml, bet T75 kolbām - 5-10 ml). Uzklājiet Accutase (1-2 ml T25 kolbām, 2,5 ml T75 kolbām), nodrošinot pilnīgu šūnu slāņa pārklājumu. Ļaujiet šūnām inkubēties istabas temperatūrā 10 minūtes. Pēc inkubācijas apvienot un centrifugēt gan suspensiju, gan pielipušās šūnas. Pēc centrifugēšanas uzmanīgi resuspendēt šūnu granulas un pārvietot šūnu suspensiju jaunās kolbās ar svaigu barotni.

**Seeding density** 1 līdz  $3 \times 10^6$  šūnas/cm<sup>2</sup>

**Fluid renewal** Ik pēc 3 dienām

**Post-Thaw Recovery** Pēc atkausēšanas izklidējiet šūnas uz šķīvja ar blīvumu  $5 \times 10^4$  šūnas/cm<sup>2</sup> un ļaujiet šūnām atgūties no sasaldēšanas procesa un pielipt vismaz 24 stundas.

**Freeze medium** Kā kriokonservēšanas barotni mēs izmantojam pilnvērtīgu augšanas barotni (ieskaitot FBS) + 10 % DMSO, lai nodrošinātu pietiekamu dzīvotspēju pēc atkausēšanas, vai CM-1 (Cytion kataloga numurs 800100), kas ietver optimizētus osmoprotektorus un metaboliskos stabilizatorus, lai uzlabotu atveseļošanos un samazinātu krioinducēto stresu.

## LLC-PK1 šūnas | 607264

**Thawing and  
Culturing Cells**

1. Pārliecinieties, ka pēc piegādes flakons paliek dziļi sasaldēts, jo šūnas tiek sūtītas uz sausā ledus, lai pārvadāšanas laikā saglabātu optimālu temperatūru.
2. Pēc saņemšanas vai nu nekavējoties uzglabāt kriovialu temperatūrā, kas zemāka par -150 °C, lai nodrošinātu šūnu integritātes saglabāšanu, vai arī turpināt 3. posmu, ja nepieciešama tūlītēja kultivēšana.
3. Tūlītējas kultivēšanas gadījumā ātri atkausējiet flakonu, iegremdējot to 37°C ūdens vannā ar tīru ūdeni un antibakteriālu līdzekli, viegli maisot 40-60 sekundes, līdz paliek neliels ledus gabaliņš.
4. Visas turpmākās darbības veiciet sterilos apstākļos plūsmas nosūcējā, pirms atvēršanas dezinficējot kriovialu ar 70% etanolu.
5. Uzmanīgi atveriet dezinficēto flakonu un pārnesiet šūnu suspensiju 15 ml centrifūgas mēģenē, kurā ir 8 ml istabas temperatūras barotnes, uzmanīgi samaisot.
6. Centrifugējiet maisījumu ar 300 x g 3 minūtes, lai atdalītu šūnas, un uzmanīgi izmetiet virskārtu, kas satur saldēšanas barotnes atlikumus.
7. Viegli resuspendēt šūnu granulas 10 ml svaigas barotnes. Adhēzijas šūnu gadījumā suspensiju sadalīt divās T25 kolbās; suspensijas kultūrām visu barotni pārnest vienā T25 kolbā, lai veicinātu efektīvu šūnu mijiedarbību un augšanu.
8. Ievērojiet noteiktos subkultūru protokolus, lai nodrošinātu nepārtrauktu šūnu līnijas augšanu un uzturēšanu, tādējādi nodrošinot uzticamus eksperimentu rezultātus.

**Incubation  
Atmosphere**37°C, 5%  $\text{CO}_2$ , mitrināta atmosfēra.**Flask Coating**

Neviens

**Freezing  
Procedure**

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidrums daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

**LLC-PK1 šūnas | 607264**

**Shipping  
Conditions**

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidrums daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

**Storage  
Conditions**

Ilgstošai uzglabāšanai flakonus ievietojiet šķidrā slāpekļī ar tvaika fāzi aptuveni -150 līdz -196 °C temperatūrā. Uzglabāšana -80 °C temperatūrā ir pieļaujama tikai kā īss starposms pirms pārvietošanas uz šķidro slāpekli.

**Kvalitātes kontrole / Ģenētiskais profils / HLA**

**Sterility**

Mikoplazmas piesārņojums tiek izslēgts, izmantojot gan uz PCR balstītus testus, gan uz luminiscenci balstītas mikoplazmas noteikšanas metodes.

Lai pārliecinātos, ka nav baktēriju, sēnīšu vai rauga piesārņojuma, šūnu kultūras katru dienu vizuāli pārbauda.