

LLC-PK1-celler | 607264

Generell informasjon

Description

LLC-PK1-celler er en veletablert og mye brukt cellelinje i biomedisinsk forskning. Disse cellene er avledet fra nyrene til en frisk hanngris, og de har en typisk epitel morfologi. LLC-PK1-linjen er polarisert og inneholder tight junctions, noe som gjør den til en ideell modell for epitelvev.

En av de kritiske egenskapene til LLC-PK1-cellene er deres evne til å produsere plasminogenaktivator, et stoff som stimulerer fibrinolyse. Denne egenskapen har gjort LLC-PK1-celler spesielt verdifulle i tromboseforskning.

I de senere årene har plasminogenaktivator blitt inkludert i legemidler som brukes i trombosebehandlinger, siden det gjør det lettere å løse opp små blodpropper. I tillegg til å produsere plasminogenaktivatorer produserer LLC-PK1-celler store mengder cytotokeratin. Denne egenskapen har gjort dem populære for ulike farmakologiske og metabolske forskningsstudier.

LLC-PK1-linjen har blitt brukt i studier av legemiddelmetabolisme, transport, toksisitet og interaksjoner. LLC-PK1-celler brukes også ofte i permeabilitetsanalyser. Mekanismen for uraciltransport varierer fra cellelinje til cellelinje, med et Na⁺-uavhengig system på den basolaterale membranen i Caco-2-celler og både Na⁺-avhengige og Na⁺-uavhengige systemer på den apikale membranen i LLC-PK1-celler.

Sammenlignet med andre cellelinjer har LLC-PK1-celler mange av de samme egenskapene som proksimale tubulære celler in vivo, blant annet mikrovilli på apikalmembranen, høy aktivitet av enzymer på apikalmembranen og uttrykk av parathormonreseptorer og natriumavhengige glukosetransportører. Dette gjør LLC-PK1-celler til et verdifullt verktøy i nyretoksikologiske studier. En annen cellelinje som ofte brukes i nyretoksikologiske studier, er MDCK-cellelinjen. I likhet med LLC-PK1-celler er MDCK-celler epitelceller, men har egenskaper som er mer typiske for distale tubulære celler.

De uttrykker vasopressin-, oksytocin- og prostaglandinreseptorer, som aktiverer adenylatsyklase når de stimuleres. LLC-PK1- og MDCK-cellelinjene formerer seg raskt og kan enkelt overføres i mange generasjoner i monolagskulturer. LLC-PK1-celler er også i stand til å danne "kupler", væskefylte blærer som følge av vann- og væsketransport, tette overganger og adhesjon av cellene til substratet.

LLC-PK1-cellelinjen er et allsidig og verdifullt verktøy for biomedisinsk forskning. Den har vært mye brukt i ulike studier av legemiddelmetabolisme, transport av legemidler, legemiddeltoksisitet, interaksjoner mellom legemidler, nyretoksikologi og permeabilitetsanalyser. Med sin veletablerte epitel morfologi og produksjon av plasminogenaktivator og cytotokeratin er LLC-PK1-celler en ideell modell for epitelvev.

Organism Sus Scrofa

Tissue Nyre

Applications Metabolisme, permeabilitetsanalyser, toksisitet og interaksjonsstudier.

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

Kjennetegn

Breed/Subspecies Hampshire

LLC-PK1-celler | 607264

Age 3-4 uker

Gender Mann

Morphology Epitel-lignende

Growth properties Adherent/suspensjon. Det tar et par dager før cellene vokser i adherente kolonier.

Regulatoriske data

Citation LLC-PK1 (Cytion katalognummer 607264)

Biosafety level Cellelinjen inneholder sekvenser og transkripter av porcint type C oncovirus (PCOV). Infeksjonsmåten er ubestemt, og virusutskillelse kan ikke utelukkes. I Tyskland er disse virusene klassifisert som BSL 1 for mennesker og BSL 2 for dyr (TRBA 462). Den tyske sentralkomiteen for biologisk sikkerhet (ZKBS) klassifiserer imidlertid disse virusene og infiserte cellelinjer som BSL 2 for genmodifisering.

NCBI_TaxID 9823

CellosaurusAccession CVCL_0391

Biomolekylære data

Viruses Inneholder sekvenser og transkripter fra porcint type C oncovirus (PCOV). Virusuttrykk kan ikke utelukkes.

Products Plasminogenaktivator

Håndtering

Culture Medium Medium 199, m: 2,7 mM stabil glutamin, m: 2,2 g/L NaHCO₃, m: EBSS (Cytion artikkelnummer 820101a)

Supplements Tilsett mediet med 3 % FBS

Dissociation Reagent Accutase

LLC-PK1-celler | 607264

Subculturing Samle suspensjonscellene i et 15 ml rør, og vask de adherente cellene forsiktig med PBS uten kalsium og magnesium (bruk 3-5 ml for T25-kolber og 5-10 ml for T75-kolber). Påfør Accutase (1-2 ml for T25-kolber, 2,5 ml for T75-kolber) og sørg for full dekning av cellelaget. La cellene inkubere i romtemperatur i 10 minutter. Etter inkubasjon kombineres og sentrifugeres både suspensjonen og de adherente cellene. Etter sentrifugering resuspenderes cellepelletten forsiktig, og cellesuspensjonen overføres til nye kolber som inneholder nytt medium.

Split ratio Et forhold på 1:3 til 1:8 anbefales

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

Fluid renewal Hver tredje dag

Post-Thaw Recovery Etter tining, plasser cellene på 5×10^4 celler/cm² og la cellene komme seg etter fryseprosessen og feste seg i minst 24 timer.

Freeze medium Som kryopreserveringsmedium bruker vi komplett vekstmedium (inkludert FBS) + 10 % DMSO for tilstrekkelig levedyktighet etter opptining, eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som inneholder optimaliserte osmoprotective midler og metabolske stabilisatorer for å øke utvinningen og redusere kryoinduisert stress.

LLC-PK1-celler | 607264

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Kontroller at hetteglasset er dypfrysst ved levering, ettersom cellene sendes på tørris for å opprettholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved mottak skal hetteglasset enten oppbevares umiddelbart ved temperaturer under $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ for å sikre at cellenes integritet bevares, eller gå videre til trinn 3 hvis umiddelbar dyrking er nødvendig.
3. Ved umiddelbar dyrking tiner du hetteglasset raskt ved å senke det ned i et $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ varmt vannbad med rent vann og et antimikrobielt middel, og røre forsiktig i 40-60 sekunder til det blir en liten isklump igjen.
4. Utfør alle påfølgende trinn under sterile forhold i en strømningshette, og desinfiser kryoflasken med 70 % etanol før du åpner den.
5. Åpne det desinfiserte hetteglasset forsiktig, og overfør cellesuspensjonen til et 15 ml sentrifugerør som inneholder 8 ml romtemperert dyrkingsmedium, og bland forsiktig.
6. Sentrifuger blandingen ved $300 \times g$ i 3 minutter for å separere cellene, og kast supernatanten som inneholder rester av frysemedium, forsiktig.
7. Resuspender cellepelleten forsiktig i 10 ml nytt dyrkingsmedium. For adherente celler, del suspensjonen mellom to T25-kulturkolber; for suspensjonskulturer, overfør alt mediet til én T25-kolbe for å fremme effektiv celleinteraksjon og vekst.
8. Følg etablerte subkulturprotokoller for fortsatt vekst og vedlikehold av cellelinjen, noe som sikrer pålitelige eksperimentelle resultater.

**Incubation
Atmosphere**

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

Flask Coating

Ingen

**Freezing
Procedure**

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca. $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

**Shipping
Conditions**

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca. $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

LLC-PK1-celler | 607264

**Storage
Conditions**

For langtidsoppbevaring plasseres hetteglassene i flytende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Lagring ved -80 °C er kun akseptabelt som et kort mellomtrinn før overføring til flytende nitrogen.

Kvalitetskontroll / Genetisk profil / HLA

Sterility

Mykoplasma-kontaminering utelukkes ved hjelp av både PCR-baserte analyser og luminescensbaserte metoder for påvisning av mykoplasma.

For å sikre at det ikke finnes bakterie-, sopp- eller gjærkontaminering, blir cellekulturene inspisert visuelt hver dag.