

**Komórki LLC-PK1 | 607264****Informacje ogólne****Description**

Komórki LLC-PK1 są dobrze ugruntowaną i szeroko stosowaną linią komórkową w badaniach biomedycznych. Komórki te pochodzą ze zdrowej nerki samca świni, wykazując typową morfologię nabłonka. Linia LLC-PK1 jest spolaryzowana i zawiera połączenia ścisłe, co czyni ją idealnym modelem tkanki nabłonkowej.

Jedną z krytycznych cech komórek LLC-PK1 jest ich zdolność do produkcji aktywatora plazminogenu, substancji stymulującej fibrylizę. Właściwość ta sprawia, że komórki LLC-PK1 są szczególnie cenne w badaniach nad zakrzepicą.

W ostatnich latach aktywator plazminogenu został włączony do leków stosowanych w terapii zakrzepicy, ponieważ ułatwia rozpuszczanie matych skrzepów krwi. Oprócz produkcji aktywatorów plazminogenu, komórki LLC-PK1 wytwarzają duże ilości cytokeratyny. Ta cecha sprawiła, że stały się one popularne w różnych badaniach farmakologicznych i metabolicznych.

Linia LLC-PK1 została wykorzystana w badaniach metabolizmu, transportu, toksyczności i interakcji leków. Komórki LLC-PK1 są również często wykorzystywane w testach przepuszczalności. Mechanizm transportu uracylu różni się w zależności od linii komórkowej, z systemem niezależnym od Na<sup>+</sup> na błonie podstawno-bocznej w komórkach Caco-2 i zarówno Na<sup>+</sup>-zależnym, jak i Na<sup>+</sup>-niezależnym systemem na błonie wierzchołkowej w komórkach LLC-PK1.

W porównaniu z innymi liniami komórkowymi, komórki LLC-PK1 mają wiele cech charakterystycznych dla komórek kanalików proksymalnych in vivo, w tym mikrokosmki błony apikalnej, wysoką aktywność enzymów błony apikalnej oraz ekspresję receptorów hormonu przytarczyc i zależnych od sodu transporterów glukozy. Sprawia to, że komórki LLC-PK1 są cennym narzędziem w badaniach toksykologicznych nerek. Inną linią komórkową powszechnie stosowaną w badaniach toksykologicznych nerek jest linia komórkowa MDCK. Podobnie jak komórki LLC-PK1, komórki MDCK są nabłonkowe, ale mają cechy bardziej typowe dla komórek kanalików dystalnych.

Wyrażają one receptory wazopresyny, oksytocyny i prostaglandyn, które po stymulacji aktywują cyklazę adenylanową. Linie komórkowe LLC-PK1 i MDCK szybko się namnażają i mogą być łatwo pasażowane przez wiele pokoleń w hodowlach jednowarstwowych. Komórki LLC-PK1 są również zdolne do tworzenia "kopuł", wypełnionych płynem pęcherzyków wynikających z transportu wody i substancji rozpuszczonych, ścisłych połączeń i adhezji komórek do podłoża.

Podsumowując, linia komórkowa LLC-PK1 jest wszechstronnym i cennym narzędziem do badań biomedycznych. Była szeroko stosowana w różnych badaniach nad metabolizmem leków, transportem leków, toksycznością leków, interakcjami lek-lek, toksykologią nerek i testami przepuszczalności. Dzięki dobrze ugruntowanej morfologii nabłonka oraz produkcji aktywatora plazminogenu i cytokeratyny, komórki LLC-PK1 są idealnym modelem tkanki nabłonkowej.

**Organism** Sus Scrofa

**Tissue** Nerka

**Applications** Metabolizm leków, testy przepuszczalności, toksyczność i badania interakcji.

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

**Komórki LLC-PK1 | 607264****Charakterystyka**

<b>Breed/Subspecies</b>	Hampshire
<b>Age</b>	3-4 tygodnie
<b>Gender</b>	Męczyzna
<b>Morphology</b>	Podobny do nabłonka
<b>Growth properties</b>	Adherent

**Dane regulacyjne**

<b>Citation</b>	LLC-PK1 (numer katalogowy Cytion 607264)
<b>Biosafety level</b>	Linia komórkowa zawiera sekwencje i transkrypty onkowirusa świni typu C (PCOV). Tryb infekcji jest nieokreślony i nie można wykluczyć wydzielania wirusa. W Niemczech wirusy te są klasyfikowane jako BSL 1 dla ludzi i BSL 2 dla zwierząt (TRBA 462). Bezpieczeństwa Biologicznego (ZKBS) klasyfikuje te wirusy i zainfekowane linie komórkowe jako BSL 2 dla zastosowań modyfikacji genetycznej.
<b>NCBI_TaxID</b>	9823
<b>CellosaurusAccession</b>	CVCL_0391

**Dane biomolekularne**

<b>Viruses</b>	Zawiera sekwencje i transkrypty onkowirusa świń typu C (PCOV). Nie można wykluczyć ekspresji wirusa.
<b>Products</b>	Aktywator plazminogenu

**Obsługa**

<b>Culture Medium</b>	Medium 199, w: 2,7 mM stabilnej glutaminy, w: 2,2 g/L NaHCO <sub>3</sub> , w: EBSS (numer artykułu Cytion 820101a)
<b>Supplements</b>	Uzupełnić podłoże 3% FBS
<b>Dissociation Reagent</b>	Accutase

**Komórki LLC-PK1 | 607264**

**Subculturing** Zebrać komórki zawiesiny do probówki o pojemności 15 ml i delikatnie przemyć przylegające komórki PBS pozbawionym wapnia i magnezu (użyć 3-5 ml dla kolb T25 i 5-10 ml dla kolb T75). Nałożyć Accutase (1-2 ml na kolby T25, 2,5 ml na kolby T75), zapewniając pełne pokrycie warstwy komórek. Pozostawić komórki do inkubacji w temperaturze pokojowej przez 10 minut. Po inkubacji połączyć i odwirować zarówno zawiesinę, jak i przylegające komórki. Po odwirowaniu ostrożnie zawiesić osad komórek i przenieść zawiesinę komórek do nowych kolb zawierających świeżą pożywkę.

**Split ratio** Zalecane są proporcje od 1:3 do 1:8

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

**Fluid renewal** Co 3 dni

**Post-Thaw Recovery** Po rozmrożeniu umieścić komórki na płytce w ilości  $5 \times 10^4$  komórek/cm<sup>2</sup> i pozostawić je na co najmniej 24 godziny, aby mogły się zregenerować po procesie zamrażania i przylgnąć do podłoża.

**Freeze medium** Jako pożywki do kriokonserwacji używamy kompletnej pożywki wzrostowej (w tym FBS) + 10% DMSO w celu zapewnienia odpowiedniej żywotności po rozmrożeniu lub CM-1 (numer katalogowy Cytion 800100), która zawiera zoptymalizowane osmoprotektanty i stabilizatory metaboliczne w celu zwiększenia regeneracji i zmniejszenia stresu wywołanego kriokonserwacją.

**Komórki LLC-PK1 | 607264****Thawing and  
Culturing Cells**

1. Upewnij się, że fiolka pozostaje głęboko zamrożona w momencie dostawy, ponieważ komórki są wysyłane w suchym lodzie, aby utrzymać optymalną temperaturę podczas transportu.
2. Po otrzymaniu należy natychmiast przechowywać fiolkę w temperaturze poniżej  $-150^{\circ}\text{C}$ , aby zapewnić zachowanie integralności komórek, lub przejść do kroku 3, jeśli wymagana jest natychmiastowa hodowla.
3. W przypadku natychmiastowej hodowli należy szybko rozmrozić fiolkę, zanurzając ją w łaźni wodnej o temperaturze  $37^{\circ}\text{C}$  z czystą wodą i środkiem przeciwdrobnoustrojowym, delikatnie mieszając przez 40-60 sekund, aż pozostanie niewielka grudka lodu.
4. Wykonaj wszystkie kolejne kroki w sterylnych warunkach w kapturze przepływowej, dezynfekując fiolkę 70% etanolem przed otwarciem.
5. Ostrożnie otworzyć zdezynfekowaną fiolkę i przenieść zawiesinę komórek do 15 ml próbówki wirówkowej zawierającej 8 ml podłoża hodowlanego o temperaturze pokojowej, delikatnie mieszając.
6. Wirować mieszaninę z prędkością  $300 \times g$  przez 3 minuty w celu oddzielenia komórek i ostrożnie odrzucić supernatant zawierający pozostałości pożywki do zamrażania.
7. Delikatnie ponownie zawiesić osad komórek w 10 ml świeżego podłoża hodowlanego. W przypadku komórek przylegających, rozdzielić zawiesinę pomiędzy dwie kolby hodowlane T25; w przypadku hodowli zawieszonych, przenieść całą pożywkę do jednej kolby T25 w celu promowania skutecznej interakcji i wzrostu komórek.
8. Przestrzegaj ustalonych protokołów podhodowli w celu ciągłego wzrostu i utrzymania linii komórkowej, zapewniając wiarygodne wyniki eksperymentów.

**Incubation  
Atmosphere**

$37^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , nawilżona atmosfera.

**Flask Coating**

Brak

**Freezing  
Procedure**

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około  $-78^{\circ}\text{C}$  przez czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

## Komórki LLC-PK1 | 607264

### Shipping Conditions

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około  $-78^{\circ}\text{C}$  przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiołki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

### Storage Conditions

W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiołki w ciekłym azocie w fazie lotnej w temperaturze od  $-150$  do  $-196^{\circ}\text{C}$ . Przechowywanie w temperaturze  $-80^{\circ}\text{C}$  jest dopuszczalne tylko jako krótki etap przejściowy przed przeniesieniem do ciekłego azotu.

## Kontrola jakości / Profil genetyczny / HLA

### Sterility

Zanieczyszczenie mykoplazmą jest wykluczane przy użyciu zarówno testów opartych na PCR, jak i metod wykrywania mykoplazmy opartych na luminescencji.

Aby upewnić się, że nie ma zanieczyszczenia bakteriami, grzybami lub drożdżami, hodowle komórkowe są poddawane codziennym kontrolom wizualnym.