

Células LLC-PK1 | 607264**Informações gerais****Description**

As células LLC-PK1 são uma linha celular bem estabelecida e amplamente utilizada na investigação biomédica. Estas células foram derivadas de um rim de porco macho saudável, exibindo uma morfologia epitelial típica. A linha LLC-PK1 é polarizada e contém junções estreitas, o que a torna um modelo ideal para o tecido epitelial.

Uma das características críticas das células LLC-PK1 é a sua capacidade de produzir ativador de plasminogénio, uma substância que estimula a fibrinólise. Esta propriedade tornou as células LLC-PK1 particularmente valiosas na investigação da trombose.

Nos últimos anos, o ativador do plasminogénio foi incluído em medicamentos utilizados em terapias contra a trombose, uma vez que facilita a dissolução de pequenos coágulos sanguíneos. Para além de produzirem activadores do plasminogénio, as células LLC-PK1 produzem grandes quantidades de citoqueratina. Esta característica tornou-as populares para várias investigações farmacológicas e metabólicas.

A linha LLC-PK1 tem sido utilizada em estudos de metabolismo, transporte, toxicidade e interação de medicamentos. As células LLC-PK1 são também frequentemente utilizadas em ensaios de permeabilidade. O mecanismo de transporte do uracilo difere consoante as linhas celulares, com um sistema independente de Na⁺ na membrana basolateral das células Caco-2 e sistemas dependentes e independentes de Na⁺ na membrana apical das células LLC-PK1.

Em comparação com outras linhas celulares, as células LLC-PK1 partilham muitas características das células tubulares proximais in vivo, incluindo microvilosidades da membrana apical, actividades elevadas de enzimas da membrana apical e expressão de receptores da hormona paratiroide e transportadores de glucose dependentes de sódio. Este facto faz das células LLC-PK1 uma ferramenta valiosa nos estudos de toxicologia renal. Outra linha celular habitualmente utilizada em estudos de toxicologia renal é a linha celular MDCK. Tal como as células LLC-PK1, as células MDCK são epiteliais, mas têm características mais típicas das células tubulares distais.

Expressam receptores de vasopressina, oxitocina e prostaglandina, que, quando estimulados, activam a adenilato ciclase. As linhas celulares LLC-PK1 e MDCK proliferam rapidamente e podem ser facilmente passadas por muitas gerações em culturas de monocamada. As células LLC-PK1 são também capazes de formar "cúpulas", bolhas cheias de fluido resultantes do transporte de água e soluto, de junções estreitas e da adesão das células ao substrato.

Em conclusão, a linha celular LLC-PK1 é uma ferramenta versátil e valiosa para a investigação biomédica. Tem sido amplamente utilizada em vários estudos sobre o metabolismo dos medicamentos, o transporte de medicamentos, a toxicidade dos medicamentos, as interações medicamentosas, a toxicologia renal e os ensaios de permeabilidade. Com a sua morfologia epitelial bem estabelecida e a produção de ativador do plasminogénio e citoqueratina, as células LLC-PK1 são um modelo ideal para o tecido epitelial.

Organism Sus Scrofa

Tissue Rim

Applications Metabolismo de medicamentos, ensaios de permeabilidade, toxicidade e estudos de interação.

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

Células LLC-PK1 | 607264**Caraterísticas**

Breed/Subspecies	Hampshire
Age	3-4 semanas
Gender	Masculino
Morphology	De tipo epitelial
Growth properties	Aderente

Dados regulamentares

Citation	LLC-PK1 (número de catálogo Cytion 607264)
Biosafety level	A linha celular contém sequências e transcrições do oncovírus porcino tipo C (PCOV). O modo de infecção é indeterminado e a secreção viral não pode ser excluída. Na Alemanha, estes vírus estão classificados como BSL 1 para humanos e BSL 2 para animais (TRBA 462). No entanto, o Comitê Central Alemão de Segurança Biológica (ZKBS) classifica estes vírus e as linhas celulares infectadas como BSL 2 para aplicações de modificação genética.
NCBI_TaxID	9823
CellosaurusAccession	CVCL_0391

Dados biomoleculares

Viruses	Contém sequências e transcritos do oncovírus porcino tipo C (PCOV). A expressão do vírus não pode ser excluída.
Products	Ativador do plasminogénio

Manuseamento

Culture Medium	Meio 199, com: 2,7 mM de glutamina estável, com: 2,2 g/L NaHCO ₃ , com: EBSS (número de artigo Cytion 820101a)
Supplements	Completar o meio com 3% de FBS

Células LLC-PK1 | 607264**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Reunir as células em suspensão num tubo de 15 ml e lavar suavemente as células aderentes com PBS sem cálcio e magnésio (utilizar 3-5 ml para os frascos T25 e 5-10 ml para os frascos T75). Aplicar Accutase (1-2 ml para os frascos T25, 2,5 ml para os frascos T75), assegurando a cobertura total da camada celular. Deixar as células incubar à temperatura ambiente durante 10 minutos. Após a incubação, combinar e centrifugar tanto a suspensão como as células aderentes. Após a centrifugação, ressuspender cuidadosamente o pellet de células e transferir a suspensão de células para novos frascos com meio fresco.**Seeding density** 1 a 3×10^6 células/cm²**Fluid renewal** A cada 3 dias**Post-Thaw Recovery** Após o descongelamento, coloque as células em placas a uma densidade de 5×10^4 células/cm² e deixe-as recuperar do processo de congelamento e aderir durante pelo menos 24 horas.**Freeze medium** Como meio de criopreservação, utilizamos um meio de crescimento completo (incluindo FBS) + 10% DMSO para uma viabilidade pós-descongelamento adequada, ou CM-1 (número de catálogo Cytion 800100), que inclui osmoprotectores otimizados e estabilizadores metabólicos para melhorar a recuperação e reduzir o stress induzido pela crio.

Células LLC-PK1 | 607264

Thawing and Culturing Cells

1. Confirme que o frasco permanece profundamente congelado aquando da entrega, uma vez que as células são enviadas em gelo seco para manter as temperaturas ideais durante o transporte.
2. Após a receção, armazenar o frasco criogénico imediatamente a temperaturas inferiores a -150°C para garantir a preservação da integridade celular, ou avançar para o passo 3 se for necessária uma cultura imediata.
3. Para uma cultura imediata, descongelar rapidamente o frasco imergindo-o num banho de água a 37°C com água limpa e um agente antimicrobiano, agitando suavemente durante 40-60 segundos até ficar um pequeno aglomerado de gelo.
4. Efetuar todos os passos subsequentes em condições estéreis numa capela de fluxo, desinfectando o frasco criogénico com etanol a 70% antes de o abrir.
5. Abrir cuidadosamente o frasco desinfectado e transferir a suspensão de células para um tubo de centrifugação de 15 ml contendo 8 ml de meio de cultura à temperatura ambiente, misturando suavemente.
6. Centrifugar a mistura a $300 \times g$ durante 3 minutos para separar as células e eliminar cuidadosamente o sobrenadante que contém o meio de congelação residual.
7. Ressuspender suavemente o pellet de células em 10 ml de meio de cultura fresco. No caso de células aderentes, dividir a suspensão entre dois frascos de cultura T25; no caso de culturas em suspensão, transferir todo o meio para um frasco T25 para promover uma interação e um crescimento eficazes das células.
8. Cumprir os protocolos de subcultura estabelecidos para o crescimento e manutenção contínuos da linha celular, garantindo resultados experimentais fiáveis.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , atmosfera humidificada.

Flask Coating

Nenhum

Freezing Procedure

As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente -78°C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

Células LLC-PK1 | 607264

Shipping Conditions

As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente -78 °C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

Storage Conditions

Para conservação a longo prazo, colocar os frascos em azoto líquido em fase de vapor a uma temperatura entre -150 e -196 °C. O armazenamento a -80 °C é aceitável apenas como um curto passo intermédio antes da transferência para azoto líquido.

Controlo de qualidade / Perfil genético / HLA

Sterility

A contaminação por micoplasma é excluída utilizando ensaios baseados em PCR e métodos de deteção de micoplasma baseados em luminescência.

Para garantir que não há contaminação bacteriana, fúngica ou de leveduras, as culturas de células são sujeitas a inspecções visuais diárias.