

Celice LLC-PK1 | 607264

Splošne informacije

Description

Celice LLC-PK1 so uveljavljena in pogosto uporabljena celična linija v biomedicinskih raziskavah. Te celice so bile pridobljene iz zdravih moških prašičjih ledvic in imajo značilno epiteljsko morfologijo. Linija LLC-PK1 je polarizirana in vsebuje tesne povezave, zato je idealen model za epiteljsko tkivo.

Ena od ključnih značilnosti celic LLC-PK1 je njihova sposobnost proizvodnje aktivatorja plazminogena, snovi, ki spodbuja fibrinolizo. Zaradi te lastnosti so celice LLC-PK1 še posebej dragocene pri raziskavah tromboze.

V zadnjih letih je bil aktivator plazminogena vključen v zdravila, ki se uporabljajo pri zdravljenju tromboze, saj pospešuje raztapljanje majhnih krvnih strdkov. Poleg proizvodnje aktivatorjev plazminogena celice LLC-PK1 proizvajajo velike količine citokeratina. Zaradi te lastnosti so postale priljubljene za različne farmakološke in presnovne raziskave.

Linija LLC-PK1 je bila uporabljena v študijah presnove, transporta, toksičnosti in interakcij zdravil. Celice LLC-PK1 se pogosto uporabljajo tudi v preskusih prepustnosti. Mehanizem prenosa uracila se razlikuje glede na celične linije, pri čemer je pri celicah Caco-2 na bazolateralni membrani Na⁺ neodvisen sistem, pri celicah LLC-PK1 pa sta na apikalni membrani Na⁺ odvisna in Na⁺ neodvisna sistema.

V primerjavi z drugimi celičnimi linijami imajo celice LLC-PK1 številne značilnosti proksimalnih tubularnih celic in vivo, vključno z mikrovalovi apikalne membrane, visoko aktivnostjo encimov apikalne membrane ter izražanjem receptorjev za paratiroidne hormone in od natrija odvisnih prenašalcev glukoze. Zato so celice LLC-PK1 dragoceno orodje v študijah toksikologije ledvic. Druga celična linija, ki se pogosto uporablja v ledvičnih toksikoloških študijah, je celična linija MDCK. Tako kot celice LLC-PK1 so tudi celice MDCK epiteljske, vendar imajo značilnosti, ki so bolj značilne za distalne tubularne celice.

Izražajo receptorje za vazopresin, oksitocin in prostaglandine, ki ob stimulaciji aktivirajo adenilat ciklazo. Celične linije LLC-PK1 in MDCK se hitro razmnožujejo in jih je mogoče zlahka prenašati v več generacij v enoslojnih kulturah. Celice LLC-PK1 lahko tvorijo tudi "kupole", s tekočino napolnjene mehurčke, ki so posledica prenosa vode in topljenca, tesnih povezav in adhezije celic na podlago.

Celična linija LLC-PK1 je vsestransko in dragoceno orodje za biomedicinske raziskave. Široko se uporablja v različnih študijah o presnovi zdravil, prenosu zdravil, toksičnosti zdravil, interakcijah med zdravili, ledvični toksikologiji in preskusih prepustnosti. Celice LLC-PK1 so s svojo dobro vzpostavljeno epiteljsko morfologijo ter proizvodnjo aktivatorja plazminogena in citokeratina idealen model za epiteljsko tkivo.

Organism Sus Scrofa

Tissue Ledvice

Applications Metabolizem zdravil, preskusi prepustnosti, toksičnost in študije interakcij.

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

Značilnosti

Breed/Subspecies Hampshire

Celice LLC-PK1 | 607264**Age** 3-4 tedne**Gender** Moški**Morphology** Epitelijam podobni**Growth properties** Pripadajoče**Regulativni podatki****Citation** LLC-PK1 (katalogska številka Cytion 607264)**Biosafety level** Celična linija vsebuje zaporedja in transkripte prašičjega onkovirusa tipa C (PCOV). Način okužbe ni določen, izločanja virusa pa ni mogoče izključiti. V Nemčiji so ti virusi razvrščeni kot BSL 1 za ljudi in BSL 2 za živali (TRBA 462). Nemški osrednji odbor za biološko varnost (ZKBS) pa te viruse in okužene celične linije razvršča kot BSL 2 za uporabo pri genskem spreminjanju.**NCBI_TaxID** 9823**CellosaurusAccession** CVCL_0391**Biomolekularni podatki****Viruses** Vsebuje zaporedja in transkripte prašičjega onkovirusa tipa C (PCOV). Izražanja virusa ni mogoče izključiti.**Products** Aktivator plazminogena**Ravnanje s spletno stranjo****Culture Medium** Medij 199, w: 2,7 mM stabilnega glutamina, w: 2,2 g/L NaHCO₃, w: EBSS (številka izdelka Cytion 820101a)**Supplements** Gojišče dopolnite s 3 % FBS**Dissociation Reagent** Accutase

Celice LLC-PK1 | 607264

Subculturing V 15 ml epruveti zberite suspenzijske celice in jih nežno sperite s PBS brez kalcija in magnezija (uporabite 3-5 ml za bučke T25 in 5-10 ml za bučke T75). Uporabite Accutase (1-2 ml za bučke T25 in 2,5 ml za bučke T75), tako da popolnoma prekrijete plast celic. Počakajte, da se celice inkubirajo pri sobni temperaturi 10 minut. Po inkubaciji združite in centrifugirajte suspenzijo in adherentne celice. Po centrifugiranju previdno ponovno suspendirajte celično peletono in celično suspenzijo prenesite v nove bučke s svežim gojiščem.

Seeding density 1 do 3×10^6 celic/cm²

Fluid renewal Vsakih 3 dni

Post-Thaw Recovery Po odmrzovanju celice razporedite na ploščo v gostoti 5×10^4 cel^{ic}/cm² in jim pustite, da si opomorejo od zamrzovanja in se prilepijo na ploščo, vsaj 24 ur.

Freeze medium Kot gojišče za kriokonzervacijo uporabljamo popolno rastno gojišče (vključno s FBS) + 10 % DMSO za ustrezno vitalnost po odmrznitvi ali CM-1 (kataloška številka 800100 podjetja Cytion), ki vključuje optimizirane osmoprotektante in presnovne stabilizatorje za izboljšanje okrevanja in zmanjšanje stresa, povzročene s kriom.

Celice LLC-PK1 | 607264

Thawing and Culturing Cells

1. Prepričajte se, da je viala ob dostavi globoko zamrznjena, saj se celice pošiljajo na suhem ledu, da se med prevozom ohranijo optimalne temperature.
2. Po prejemu krioviala takoj shranite pri temperaturi pod $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, da zagotovite ohranitev celične celovitosti, ali pa nadaljujte s korakom 3, če je potrebno takojšnje gojenje.
3. Za takojšnje gojenje vialo hitro odtalite tako, da jo potopite v vodno kopel s čisto vodo in protimikrobnim sredstvom pri $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ ter 40-60 sekund nežno mešate, dokler ne ostane majhen ledeni kepica.
4. Vse nadaljnje korake izvajajte v sterilnih pogojih v pretočni nape, pred odprtjem pa kriovial razkužite s 70 % etanolom.
5. Previdno odprite razkuženo vialo in celično suspenzijo prenesite v 15-mililitrsko centrifugirno epruveto, ki vsebuje 8 ml gojišča sobne temperature, ter nežno premešajte.
6. Mešanico centrifugirajte pri $300 \times g$ 3 minute, da ločite celice, in previdno zavržite supernatant, ki vsebuje ostanke zamrzovalnega gojišča.
7. Pelet celic nežno ponovno suspendirajte v 10 ml svežega gojišča. Pri adherentnih celicah suspenzijo razdelite med dve bučki T25; pri suspenzijskih kulturah prenesite vse gojišče v eno bučko T25, da spodbudite učinkovito interakcijo in rast celic.
8. Upoštevajte uveljavljene protokole subkultur za nadaljnjo rast in vzdrževanje celične linije ter tako zagotovite zanesljive rezultate poskusov.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5 % CO_2 , vlažno ozračje.

Flask Coating

Nič

Freezing Procedure

Kriokonzervirane celične linije se pošiljajo na suhem ledu v potrjeni, izolirani embalaži z zadostno količino hladilnega sredstva, da se med prevozom vzdržuje približno $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Ob prejemu takoj preglejte embalažo in vialo nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.

Shipping Conditions

Kriokonzervirane celične linije se pošiljajo na suhem ledu v potrjeni, izolirani embalaži z zadostno količino hladilnega sredstva, da se med prevozom vzdržuje približno $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Ob prejemu takoj preglejte embalažo in vialo nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.

Celice LLC-PK1 | 607264

**Storage
Conditions**

Za dolgotrajno shranjevanje vial postavite v tekoči dušik v parni fazi pri približno -150 do -196 °C. Shranjevanje pri -80 °C je sprejemljivo le kot kratek vmesni korak pred prenosom v tekoči dušik.

Nadzor kakovosti / Genetski profil / HLA

Sterility

Kontaminacija z mikoplazmo se izključi z uporabo testov na podlagi PCR in metod za odkrivanje mikoplazme na podlagi luminiscence.

Da se zagotovi, da ni kontaminacije z bakterijami, glivami ali kvasovkami, se celične kulture dnevno vizualno pregledujejo.