

LLC-PK1-Zellen | 607264

Allgemeine Informationen

Description

LLC-PK1-Zellen sind eine gut etablierte und weit verbreitete Zelllinie in der biomedizinischen Forschung. Diese Zellen wurden aus der Niere eines gesunden männlichen Schweins gewonnen und weisen eine typische epitheliale Morphologie auf. Die LLC-PK1-Linie ist polarisiert und enthält enge Verbindungsstellen, was sie zu einem idealen Modell für Epithelgewebe macht.

Eine der entscheidenden Eigenschaften der LLC-PK1-Zellen ist ihre Fähigkeit, Plasminogenaktivator zu produzieren, eine Substanz, die die Fibrinolyse stimuliert. Diese Eigenschaft hat LLC-PK1-Zellen für die Thromboseforschung besonders wertvoll gemacht.

In den letzten Jahren wurde der Plasminogenaktivator in Medikamenten für die Thrombosetherapie eingesetzt, da er die Auflösung kleiner Blutgerinnsel erleichtert. LLC-PK1-Zellen produzieren nicht nur Plasminogenaktivatoren, sondern auch große Mengen an Cytokeratin. Diese Eigenschaft hat sie für verschiedene pharmakologische und metabolische Forschungsuntersuchungen beliebt gemacht.

Die LLC-PK1-Linie wurde in Studien zu Stoffwechsel, Transport, Toxizität und Interaktion von Medikamenten eingesetzt. LLC-PK1-Zellen werden auch häufig für Permeabilitätstests verwendet. Der Mechanismus des Uracil-Transports unterscheidet sich je nach Zelllinie, mit einem Na⁺-unabhängigen System an der basolateralen Membran in Caco-2-Zellen und sowohl Na⁺-abhängigen als auch Na⁺-unabhängigen Systemen an der apikalen Membran in LLC-PK1-Zellen.

Im Vergleich zu anderen Zelllinien weisen LLC-PK1-Zellen viele Merkmale von proximalen Tubuluszellen in vivo auf, darunter Mikrovilli an der apikalen Membran, hohe Aktivitäten von Enzymen an der apikalen Membran und die Expression von Parathormonrezeptoren und natriumabhängigen Glukosetransportern. Dies macht LLC-PK1-Zellen zu einem wertvollen Hilfsmittel in Studien zur Nierentoxikologie. Eine weitere Zelllinie, die häufig in Studien zur Nierentoxikologie verwendet wird, ist die MDCK-Zelllinie. Wie LLC-PK1-Zellen sind MDCK-Zellen epithelial, weisen jedoch Merkmale auf, die eher für distale Tubuluszellen typisch sind.

Sie exprimieren Vasopressin-, Oxytocin- und Prostaglandinrezeptoren, die, wenn sie stimuliert werden, die Adenylatzyklase aktivieren. LLC-PK1- und MDCK-Zelllinien vermehren sich schnell und können problemlos über viele Generationen in Monolayer-Kulturen weitergegeben werden. LLC-PK1-Zellen sind auch in der Lage, "Kuppeln" zu bilden, d. h. mit Flüssigkeit gefüllte Blasen, die durch den Transport von Wasser und gelösten Stoffen, durch enge Verbindungsstellen und durch die Adhäsion der Zellen am Substrat entstehen.

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass die LLC-PK1-Zelllinie ein vielseitiges und wertvolles Instrument für die biomedizinische Forschung ist. Sie wurde in verschiedenen Studien zum Arzneimittelstoffwechsel, zum Arzneimitteltransport, zur Arzneimitteltoxizität, zu Wechselwirkungen zwischen Arzneimitteln, zur Nierentoxikologie und zu Permeabilitätstests eingesetzt. Mit ihrer gut etablierten epithelialen Morphologie und der Produktion von Plasminogenaktivator und Cytokeratin sind LLC-PK1-Zellen ein ideales Modell für Epithelgewebe.

Organism Sus Scrofa

Tissue Niere

Applications Arzneimittelmetabolismus, Permeabilitätstests, Toxizität und Interaktionsstudien.

LLC-PK1-Zellen | 607264

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

Merkmale

Breed/Subspecies Hampshire

Age 3-4 Wochen

Gender Männlich

Morphology Epithelähnlich

Growth properties Adhärent/Suspension. Es dauert ein paar Tage, bis die Zellen zu adhären Kolonien heranwachsen.

Regulatorische Daten

Citation LLC-PK1 (Cytion-Katalognummer 607264)

Biosafety level Die Zelllinie enthält Sequenzen und Transkripte des Porcinen Onkovirus Typ C (PCOV). Der Infektionsmodus ist unbestimmt, eine virale Sekretion kann nicht ausgeschlossen werden. In Deutschland sind diese Viren als BSL 1 für Menschen und BSL 2 für Tiere eingestuft (TRBA 462). Die deutsche Zentralkommission für Biologische Sicherheit (ZKBS) stuft diese Viren und infizierte Zelllinien jedoch als BSL 2 für gentechnische Anwendungen ein.

NCBI_TaxID 9823

CellosaurusAccession CVCL_0391

Biomolekulare Daten

Viruses Enthält Sequenzen und Transkripte des Porcinen Onkovirus Typ C (PCOV). Virus-Expression kann nicht ausgeschlossen werden.

Products Plasminogen-Aktivator

Handhabung

Culture Medium Medium 199, w: 2,7 mM stabiles Glutamin, w: 2,2 g/L NaHCO₃, w: EBSS (Cytion-Artikelnummer 820101a)

LLC-PK1-Zellen | 607264

Supplements Ergänzen Sie das Medium mit 3% FBS

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Die Suspensionszellen in einem 15-ml-Röhrchen sammeln und die anhaftenden Zellen vorsichtig mit PBS ohne Kalzium und Magnesium waschen (3-5 ml für T25-Kolben und 5-10 ml für T75-Kolben verwenden). Accutase auftragen (1-2 ml für T25-Kolben, 2,5 ml für T75-Kolben), um sicherzustellen, dass die Zellschicht vollständig bedeckt ist. Die Zellen 10 Minuten lang bei Raumtemperatur inkubieren lassen. Nach der Inkubation sowohl die Suspension als auch die adhären Zellen mischen und zentrifugieren. Nach der Zentrifugation das Zellpellet vorsichtig resuspendieren und die Zellsuspension in neue Flaschen mit frischem Medium überführen.

Split ratio Empfohlen wird ein Verhältnis von 1:3 bis 1:8

Seeding density 1 bis 3×10^6 Zellen/cm²

Fluid renewal Alle 3 Tage

Post-Thaw Recovery Nach dem Auftauen die Zellen mit einer Dichte von 5×10^4 Zellen/cm² ausplattieren und die Zellen mindestens 24 Stunden lang vom Gefrierprozess erholen und adhären lassen.

Freeze medium Als Kryokonservierungsmedium verwenden wir komplettes Wachstumsmedium (einschließlich FBS) + 10 % DMSO für eine angemessene Lebensfähigkeit nach dem Auftauen oder CM-1 (Cytion Katalognummer 800100), das optimierte Osmoprotektoren und Stoffwechselstabilisatoren enthält, um die Erholung zu verbessern und kryoinduzierten Stress zu reduzieren.

LLC-PK1-Zellen | 607264

Thawing and Culturing Cells

1. Vergewissern Sie sich, dass das Fläschchen bei der Lieferung tiefgefroren ist, da die Zellen auf Trockeneis versandt werden, um während des Transports optimale Temperaturen zu erhalten.
2. Lagern Sie das Kryofläschchen nach Erhalt entweder sofort bei Temperaturen unter $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, um die Unversehrtheit der Zellen zu gewährleisten, oder fahren Sie mit Schritt 3 fort, wenn eine sofortige Kultivierung erforderlich ist.
3. Für eine sofortige Kultivierung tauen Sie das Fläschchen schnell auf, indem Sie es in ein 37°C warmes Wasserbad mit sauberem Wasser und einem antimikrobiellen Mittel eintauchen und 40-60 Sekunden lang vorsichtig schütteln, bis ein kleiner Eisklumpen zurückbleibt.
4. Führen Sie alle weiteren Schritte unter sterilen Bedingungen in einer Abzugshaube durch und desinfizieren Sie das Kryo-Fläschchen vor dem Öffnen mit 70%igem Ethanol.
5. Das desinfizierte Fläschchen vorsichtig öffnen und die Zellsuspension unter vorsichtigem Mischen in ein 15-ml-Zentrifugenröhrchen mit 8 ml Kulturmedium bei Raumtemperatur überführen.
6. Zentrifugieren Sie das Gemisch 3 Minuten lang bei $300 \times g$, um die Zellen abzutrennen, und werfen Sie den Überstand mit dem restlichen Gefriermedium vorsichtig.
7. Das Zellpellet vorsichtig in 10 ml frischem Kulturmedium resuspendieren. Bei adhären Zellen die Suspension auf zwei T25-Kulturflaschen aufteilen; bei Suspensionskulturen das gesamte Medium in eine T25-Flasche überführen, um eine effektive Zellinteraktion und ein effektives Wachstum zu fördern.
8. Halten Sie sich an die festgelegten Subkulturprotokolle, um ein kontinuierliches Wachstum und die Aufrechterhaltung der Zelllinie zu gewährleisten und zuverlässige Versuchsergebnisse zu erzielen.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , befeuchtete Atmosphäre.

Flask Coating

Keine

Freezing Procedure

Kryokonservierte Zelllinien werden auf Trockeneis in einer validierten, isolierten Verpackung mit ausreichend Kühlmittel versandt, um während des gesamten Transports eine Temperatur von etwa $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ aufrechtzuerhalten. Prüfen Sie den Behälter bei Erhalt sofort und bringen Sie die Fläschchen unverzüglich in ein geeignetes Lager.

LLC-PK1-Zellen | 607264

Shipping Conditions

Kryokonservierte Zelllinien werden auf Trockeneis in einer validierten, isolierten Verpackung mit ausreichend Kühlmittel versandt, um während des gesamten Transports eine Temperatur von etwa -78 °C aufrechtzuerhalten. Prüfen Sie den Behälter bei Erhalt sofort und bringen Sie die Fläschchen unverzüglich in ein geeignetes Lager.

Storage Conditions

Zur Langzeitkonservierung werden die Fläschchen in flüssigem Stickstoff bei etwa -150 bis -196 °C gelagert. Eine Lagerung bei -80 °C ist nur als kurzer Zwischenschritt vor der Überführung in flüssigen Stickstoff akzeptabel.

Qualitätskontrolle / Genetisches Profil / HLA

Sterility

Eine Kontamination mit Mykoplasmen wird sowohl durch PCR-basierte Assays als auch durch lumineszenzbasierte Mykoplasmen-Nachweisverfahren ausgeschlossen.

Um sicherzustellen, dass keine Kontamination mit Bakterien, Pilzen oder Hefen vorliegt, werden die Zellkulturen täglich visuell überprüft.