Product sheet

Κύτταρα LLC-PK1 | 607264

Γενικές πληροφορίες

Description

Τα κύτταρα LLC-PK1 είναι μια καθιερωμένη και ευρέως χρησιμοποιούμενη κυτταρική σειρά στη βιοϊατρική έρευνα. Τα κύτταρα αυτά προέρχονται από υγιή νεφρό αρσενικού χοίρου, με τυπική επιθηλιακή μορφολογία. Η σειρά LLC-PK1 είναι πολωμένη και περιέχει στενές συνδέσεις, καθιστώντας την ιδανικό μοντέλο για τον επιθηλιακό ιστό.

Ένα από τα κρίσιμα χαρακτηριστικά των κυττάρων LLC-PK1 είναι η ικανότητά τους να παράγουν ενεργοποιητή πλασμινογόνου, μια ουσία που διεγείρει την ινωδόλυση. Η ιδιότητα αυτή έχει καταστήσει τα κύτταρα LLC-PK1 ιδιαίτερα πολύτιμα στην έρευνα για τη θρόμβωση.

Τα τελευταία χρόνια, ο ενεργοποιητής του πλασμινογόνου έχει συμπεριληφθεί σε φάρμακα που χρησιμοποιούνται σε θεραπείες θρόμβωσης, καθώς διευκολύνει τη διάλυση μικρών θρόμβων αίματος. Εκτός από την παραγωγή ενεργοποιητών πλασμινογόνου, τα κύτταρα LLC-PK1 παράγουν μεγάλες ποσότητες κυτταροκερατίνης. Το χαρακτηριστικό αυτό τα έχει καταστήσει δημοφιλή για διάφορες φαρμακολογικές και μεταβολικές ερευνητικές έρευνες.

Η σειρά LLC-PK1 έχει χρησιμοποιηθεί σε μελέτες μεταβολισμού, μεταφοράς, τοξικότητας και αλληλεπίδρασης φαρμάκων. Τα κύτταρα LLC-PK1 χρησιμοποιούνται επίσης συχνά σε δοκιμασίες διαπερατότητας. Ο μηχανισμός μεταφοράς ουρακίλης διαφέρει ανάλογα με τις κυτταρικές σειρές, με ένα σύστημα ανεξάρτητο από το Na+ στη βασικοπλευρική μεμβράνη στα κύτταρα Caco-2 και τόσο από το Na+ εξαρτώμενο όσο και από το Na+ ανεξάρτητο σύστημα στην ακραία μεμβράνη στα κύτταρα LLC-PK1.

Σε σύγκριση με άλλες κυτταρικές σειρές, τα κύτταρα LLC-PK1 μοιράζονται πολλά χαρακτηριστικά των εγγύς σωληναριακών κυττάρων in vivo, συμπεριλαμβανομένων των μικροβελόνων της ακρολοφικής μεμβράνης, των υψηλών δραστηριοτήτων των ενζύμων της ακρολοφικής μεμβράνης και της έκφρασης υποδοχέων παραθορμόνης και των εξαρτώμενων από το νάτριο μεταφορέων γλυκόζης. Αυτό καθιστά τα κύτταρα LLC-PK1 ένα πολύτιμο εργαλείο σε μελέτες νεφρικής τοξικολογίας. Μια άλλη κυτταρική σειρά που χρησιμοποιείται συνήθως σε μελέτες νεφρικής τοξικολογίας είναι η κυτταρική σειρά MDCK. Όπως και τα κύτταρα LLC-PK1, τα κύτταρα MDCK είναι επιθηλιακά, αλλά έχουν χαρακτηριστικά πιο τυπικά των απομακρυσμένων σωληναριακών κυττάρων.

Εκφράζουν υποδοχείς αγγειοπιεσίνης, ωκυτοκίνης και προσταγλανδίνης, οι οποίοι, όταν διεγείρονται, ενεργοποιούν την αδενυλική κυκλάση. Οι κυτταρικές σειρές LLC-PK1 και MDCK πολλαπλασιάζονται ταχέως και μπορούν να περάσουν εύκολα για πολλές γενεές σε μονοστρωματικές καλλιέργειες. Τα κύτταρα LLC-PK1 είναι επίσης ικανά να σχηματίζουν "θόλους", κυψέλες γεμάτες με υγρό που προκύπτουν από τη μεταφορά νερού και διαλυμένων ουσιών, τις στενές συνδέσεις και την προσκόλληση των κυττάρων στο υπόστρωμα.

Συμπερασματικά, η κυτταρική σειρά LLC-PK1 είναι ένα ευέλικτο και πολύτιμο εργαλείο για τη βιοϊατρική έρευνα. Έχει χρησιμοποιηθεί ευρέως σε διάφορες μελέτες σχετικά με τον μεταβολισμό των φαρμάκων, τη μεταφορά φαρμάκων, την τοξικότητα των φαρμάκων, τις αλληλεπιδράσεις φαρμάκων-φαρμάκων, τη νεφρική τοξικολογία και τις δοκιμασίες διαπερατότητας. Με την καθιερωμένη επιθηλιακή μορφολογία και την παραγωγή ενεργοποιητή πλασμινογόνου και κυτταροκερατίνης, τα κύτταρα LLC-PK1 αποτελούν ιδανικό μοντέλο για τον επιθηλιακό ιστό.

Organism	Sus Scrofa
Tissue	Νεφρός

Κύτταρα LLC-PK1 | 607264

Applications	Μεταβολισμός φαρμάκων, δοκιμές διαπερατότητας, τοξικότητα και μελέτες αλληλεπίδρασης.
Synonyms	LLC-PK(1), LLC-PK-1, LLC PK-1, LLc-PK1, LLC PK1, LLCPK1, Εργαστήρια Lilly Κύτταρο-Πορκινικός νεφρός 1

Χαρακτηριστικά

Breed/Subspecies	Hampshire
Age	3-4 εβδομάδες
Gender	Άντρας
Morphology	Επιθηλιοειδής
Growth properties	Προσκολλητικό/αναστολή. Χρειάζονται μερικές ημέρες μέχρι τα κύτταρα να αναπτυχθούν σε προσκολλημένες αποικίες.

Ρυθμιστικά δεδομένα

Citation	LLC-PK1 (αριθμός καταλόγου Cytion 607264)
Biosafety level	Η κυτταρική σειρά περιέχει αλληλουχίες και μεταγράμματα του ογκοϊού των χοίρων τύπου C (PCOV). Ο τρόπος μόλυνσης είναι απροσδιόριστος και η έκκριση του ιού δεν μπορεί να αποκλειστεί. Στη Γερμανία, αυτοί οι ιοί ταξινομούνται ως BSL 1 για τον άνθρωπο και BSL 2 για τα ζώα (TRBA 462). Ωστόσο, η Γερμανική Κεντρική Επιτροπή Βιολογικής Ασφάλειας (ZKBS) κατατάσσει αυτούς τους ιούς και τις μολυσμένες κυτταρικές σειρές ως BSL 2 για εφαρμογές γενετικής τροποποίησης.
NCBI_TaxID	9823
CellosaurusAccession	CVCL_0391

Βιομοριακά δεδομένα

Viruses	Περιέχει αλληλουχίες και μεταγράμματα του ογκοϊού των χοίρων τύπου C (PCOV). Η έκφραση του ιού δεν μπορεί να αποκλειστεί.
Products	Ενεργοποιητής πλασμινογόνου

Χειρισμός

Κύτταρα LLC-PK1 | 607264

Culture Medium	Μέσο 199, w: 2,7 mM σταθερή γλουταμίνη, w: 2,2 g/L NaHCO3, w: EBSS (αριθμός άρθρου Cytion 820101a)
Supplements	Συμπληρώστε το μέσο με 3% FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Συγκεντρώστε τα εναιωρήματα σε ένα σωληνάριο των 15 ml και πλύνετε απαλά τα προσκολλημένα κύτταρα με PBS χωρίς ασβέστιο και μαγνήσιο (χρησιμοποιήστε 3-5 ml για φιάλες T25 και 5-10 ml για φιάλες T75). Εφαρμόστε Accutase (1-2 ml για φιάλες T25, 2,5 ml για φιάλες T75) εξασφαλίζοντας πλήρη κάλυψη της κυτταρικής στιβάδας. Αφήστε τα κύτταρα να επωαστούν σε θερμοκρασία δωματίου για 10 λεπτά. Μετά την επώαση, συνδυάστε και φυγοκεντρίστε τόσο το εναιώρημα όσο και τα προσκολλημένα κύτταρα. Μετά τη φυγοκέντρηση, ανασυγκεντρώστε προσεκτικά το κυτταρικό σφαιρίδιο και μεταφέρετε το εναιώρημα κυττάρων σε νέες φιάλες που περιέχουν φρέσκο μέσο.
Seeding density	1 έως 3 x 10^6 κύτ^{ταρα}/cm^2
Fluid renewal	Κάθε 3 ημέρες
Post-Thaw Recovery	Μετά την απόψυξη, τοποθετήστε τα κύτταρα σε πλάκα με πυκνότητα 5 x 10^4 κύτταρα/cm^2 και αφήστε τα κύτταρα να αναρρώσουν από τη διαδικασία κατάψυξης και να προσκολληθούν για τουλάχιστον 24 ώρες.
Freeze medium	Ως μέσο κρυοσυντήρησης, χρησιμοποιούμε πλήρες μέσο ανάπτυξης (συμπεριλαμβανομένου του FBS) + 10% DMSO για επαρκή βιωσιμότητα μετά την απόψυξη, ή CM-1 (αριθμός καταλόγου Cytion 800100), το οποίο περιλαμβάνει βελτιστοποιημένα ωσμοπροστατευτικά και μεταβολικούς σταθεροποιητές για την ενίσχυση της ανάκαμψης και τη μείωση του στρες που προκαλείται από την κρυοσυντήρηση.

Κύτταρα LLC-PK1 | 607264

Thawing and Culturing Cells

1. Επιβεβαιώστε ότι το φιαλίδιο παραμένει βαθιά παγωμένο κατά την παράδοση, καθώς τα κύτταρα αποστέλλονται σε ξηρό πάγο για να διατηρούνται οι βέλτιστες θερμοκρασίες κατά τη μεταφορά.

2. Κατά την παραλαβή, είτε αποθηκεύστε το κρυοφιαλίδιο αμέσως σε θερμοκρασίες κάτω των -150°C για να διασφαλίσετε τη διατήρηση της κυτταρικής ακεραιότητας, είτε προχωρήστε στο βήμα 3 εάν απαιτείται άμεση καλλιέργεια.

3. Για άμεση καλλιέργεια, αποψύξτε γρήγορα το φιαλίδιο βυθίζοντάς το σε υδατόλουτρο 37°C με καθαρό νερό και αντιμικροβιακό παράγοντα, αναδεύοντας απαλά για 40-60 δευτερόλεπτα μέχρι να παραμείνει ένα μικρό σβόλο πάγου.

4. Εκτελέστε όλα τα επόμενα βήματα υπό αποστειρωμένες συνθήκες σε απορροφητήρα ροής, απολυμαίνοντας το κρυοφιαλίδιο με 70% αιθανόλη πριν από το άνοιγμα.

5. Ανοίξτε προσεκτικά το απολυμασμένο φιαλίδιο και μεταφέρετε το εναιώρημα των κυττάρων σε ένα σωληνάριο φυγοκέντρησης των 15 ml που περιέχει 8 ml θρεπτικού μέσου καλλιέργειας σε θερμοκρασία δωματίου, αναμειγνύοντας απαλά.

6. Φυγοκεντρίστε το μείγμα στα 300 x g για 3 λεπτά για να διαχωριστούν τα κύτταρα και απορρίψτε προσεκτικά το υπερκείμενο που περιέχει το υπόλοιπο μέσο κατάψυξης.

7. Επανασυσσωματώστε απαλά το κυτταρικό σφαιρίδιο σε 10 ml φρέσκου μέσου καλλιέργειας. Για προσκολλημένα κύτταρα, μοιράστε το εναιώρημα σε δύο φιάλες καλλιέργειας T25- για καλλιέργειες εναιωρήματος, μεταφέρετε όλο το μέσο σε μία φιάλη T25 για να προωθήσετε την αποτελεσματική αλληλεπίδραση και ανάπτυξη των κυττάρων.

8. Τηρείτε τα καθιερωμένα πρωτόκολλα υποκαλλιέργειας για τη συνεχή ανάπτυξη και διατήρηση της κυτταρικής σειράς, εξασφαλίζοντας αξιόπιστα πειραματικά αποτελέσματα.

Incubation Atmosphere

37°C, 5%$_{CO2}$, υγροποιημένη ατμόσφαιρα.

Flask Coating

Για βέλτιστη προσκόλληση και βιωσιμότητα μετά την απόψυξη, συνιστούμε τη χρήση **φιαλών ή πλακών με επικάλυψη κολλαγόνου**.

Freezing Procedure

Οι κρυοσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των -78 °C καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.

Κύτταρα LLC-PK1 | 607264

Shipping Conditions	Οι κρυοσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των -78 °C καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.
Storage Conditions	Για μακροχρόνια συντήρηση, τοποθετήστε τα φιαλίδια σε υγρό άζωτο σε φάση ατμών σε θερμοκρασία περίπου -150 έως -196 °C. Η αποθήκευση στους -80 °C είναι αποδεκτή μόνο ως σύντομο ενδιάμεσο βήμα πριν από τη μεταφορά σε υγρό άζωτο.

Ποιοτικός έλεγχος / Γενετικό προφίλ / HLA

Sterility	Η μόλυνση από μυκόπλασμα αποκλείεται με τη χρήση τόσο των δοκιμασιών που βασίζονται στην PCR όσο και των μεθόδων ανίχνευσης μυκοπλάσματος με βάση τη φωταύγεια. Για να διασφαλιστεί ότι δεν υπάρχει μόλυνση από βακτήρια, μύκητες ή ζύμες, οι κυτταροκαλλιέργειες υποβάλλονται σε καθημερινές οπτικές επιθεωρήσεις.