

LLC-PK1-solut | 607264

Yleisiä tietoja

Description

LLC-PK1-solut ovat vakiintunut ja laajalti käytetty solulinja biolääketieteellisessä tutkimuksessa. Nämä solut on saatu terveestä urospuolisen sian munuaisesta, jolla on tyypillinen epiteelimorfologia. LLC-PK1-linja on polarisoitunut ja sisältää tiukkoja liitoksia, mikä tekee siitä ihanteellisen mallin epiteelikudokselle.

Yksi LLC-PK1-solujen kriittisistä ominaisuuksista on niiden kyky tuottaa plasminogeeniaktivaattoria, joka stimuloi fibrinolyysiä. Tämä ominaisuus on tehnyt LLC-PK1-soluista erityisen arvokkaita tromboositutkimuksessa.

Viime vuosina plasminogeeniaktivaattoria on sisällytetty tromboosihoidoissa käytettäviin lääkkeisiin, koska se helpottaa pienten verihyytymien liukenemistä. Plasminogeeniaktivaattorin tuottamisen lisäksi LLC-PK1-solut tuottavat suuria määriä sytokeratiinia. Tämä ominaisuus on tehnyt niistä suosittuja erilaisissa farmakologisissa ja metabolisissa tutkimuksissa.

LLC-PK1-linjaa on käytetty lääkkeiden metabolian, kuljetuksen, toksisuuden ja vuorovaikutustutkimuksissa. LLC-PK1-soluja käytetään usein myös läpäisevyyسمäärityksissä. Uratsiilin kuljetusmekanismi vaihtelee solulinjoista riippuen, sillä Caco-2-soluissa on basolateraalaisella kalvolla Na⁺-riippumaton järjestelmä ja LLC-PK1-soluissa sekä Na⁺-riippuvainen että Na⁺-riippumaton järjestelmä apikaalisella kalvolla.

Muihin solulinjoihin verrattuna LLC-PK1-soluilla on monia in vivo -proksimaalisten tubulaarisolujen ominaisuuksia, kuten apikaalisen kalvon mikrovillit, apikaalisen kalvon entsyymien korkea aktiivisuus sekä parathormonireseptorien ja natriumriippuvaisten glukoosinsiirtimien ilmentyminen. Tämä tekee LLC-PK1-soluista arvokkaan välineen munuaistoksikologisissa tutkimuksissa. Toinen munuaistoksikologisissa tutkimuksissa yleisesti käytetty solulinja on MDCK-solulinja. LLC-PK1-solujen tavoin MDCK-solut ovat epiteelisoluja, mutta niiden ominaisuudet ovat tyypillisempiä distaalisille tubulussoluille.

Ne ilmentävät vasopressiini-, oksitosiini- ja prostaglandiinireseptoreita, jotka stimuloituna aktivoivat adenylaattisyklaasia. LLC-PK1- ja MDCK-solulinjat lisääntyvät nopeasti, ja niitä voidaan helposti kasvattaa useita sukupolvia monokerrosviljelmissä. LLC-PK1-solut kykenevät myös muodostamaan "kupoleita", nestetäytteisiä rakkuloita, jotka johtuvat veden ja liuottimien kuljetuksesta, tiiviistä liitoksista ja solujen kiinnittymisestä alustaan.

Yhteenvetona voidaan todeta, että LLC-PK1-solulinja on monipuolinen ja arvokas väline biolääketieteelliseen tutkimukseen. Sitä on käytetty laajalti erilaisissa tutkimuksissa, jotka koskevat lääkeaineiden metaboliaa, lääkeaineiden kulkeutumista, lääkeaineiden toksisuutta, lääkeaineiden ja lääkeaineiden välisiä vuorovaikutuksia, munuaistoksikologiaa ja läpäisevyysskojeita. LLC-PK1-solut ovat vakiintuneen epiteelimorfologiansa sekä plasminogeeniaktivaattorin ja sytokeratiinin tuotannon ansiosta ihanteellinen epiteelikudoksen malli.

Organism Sus Scrofa

Tissue Munuaiset

Applications Lääkeaineen metabolia, läpäisevyyسمääritykset, toksisuus ja vuorovaikutustutkimukset.

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

LLC-PK1-solut | 607264

Ominaisuudet

Breed/Subspecies	Hampshire
Age	3-4 viikkoa
Gender	Mies
Morphology	Epiteelin kaltainen
Growth properties	Tarttuva

Sääntelytiedot

Citation	LLC-PK1 (Cytionin luettelonumero 607264)
Biosafety level	Solulinja sisältää sikojen C-typin onkoviruksen (PCOV) sekvenssejä ja transkriptejä. Tartuntatapa on määrittelemätön, eikä viruksen eritystä voida sulkea pois. Saksassa nämä virukset luokitellaan BSL 1 - luokkaan ihmisille ja BSL 2 -luokkaan eläimille (TRBA 462). Saksan biologisen turvallisuuden keskuskomitea (ZKBS) kuitenkin luokittelee nämä virukset ja tartunnan saaneet solulinjat BSL 2 - luokkaan geenimuuntelusovelluksia varten.
NCBI_TaxID	9823
CellosaurusAccession	CVCL_0391

Biomolekyylitiedot

Viruses	Sisältää sikojen C-typin onkoviruksen (PCOV) sekvenssejä ja transkriptejä. Viruksen ilmentymistä ei voida sulkea pois.
Products	Plasminogeenin aktivaattori

Käsittely

Culture Medium	Medium 199, w: 2,7 mM stabiilia glutamiinia, w: 2,2 g/L NaHCO ₃ , w: EBSS (Cytionin artikkelinumero 820101a)
Supplements	Täydennetään elatusainetta 3 %:lla FBS:llä

LLC-PK1-solut | 607264

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Kerää suspensiosolut 15 ml:n putkeen ja pese kiinni olevat solut varovasti PBS:llä, josta puuttuu kalsiumia ja magnesiumia (3-5 ml T25-pulloissa ja 5-10 ml T75-pulloissa). Levitä Accutasea (1-2 ml T25-pulloihin, 2,5 ml T75-pulloihin) varmistaen, että solukerros peittyi kokonaan. Anna solujen inkuboitua huoneenlämmössä 10 minuuttia. Inkuboinnin jälkeen yhdistetään ja sentrifugoidaan sekä suspensio että adherentit solut. Sentrifugoinnin jälkeen solupelletti suspendoidaan varovasti uudelleen ja siirretään solususpensio uusiin pulloihin, jotka sisältävät tuoretta väliaineita.

Seeding density 1–3 x 10⁶ solua/cm²

Fluid renewal 3 päivän välein

Post-Thaw Recovery Sulattamisen jälkeen levitä solut 5 x 10⁴ solua/cm² ja anna solujen toipua pakastusprosessista ja kiinnittyä vähintään 24 tunnin ajan.

Freeze medium Kryosäilytysmediana käytämme täydellistä kasvualustaa (mukaan lukien FBS) + 10 % DMSO:ta riittävän sulatuksen jälkeisen elinkelpoisuuden varmistamiseksi tai CM-1:tä (Cytionin luettelonumero 800100), joka sisältää optimoituja osmoprotektanteja ja metabolisia stabilisaattoreita, jotka parantavat elpymistä ja vähentävät kryosäilytyksen aiheuttamaa stressiä.

LLC-PK1-solut | 607264

Thawing and Culturing Cells

1. Varmista, että injektiopullo pysyy syväjäädetyttynä toimitettaessa, sillä solut kuljetetaan kuivajäädessä, jotta optimaalinen lämpötila säilyy kuljetuksen aikana.
2. Vastaanottaessa kryopullo joko säilytetään välittömästi alle -150 °C:n lämpötilassa solujen eheyden säilyttämiseksi tai edetään vaiheeseen 3, jos tarvitaan välitöntä viljelyä.
3. Välitöntä viljelyä varten sulata injektiopullo nopeasti upottamalla se 37 °C:n vesihauteeseen, jossa on puhdasta vettä ja antimikrobista ainetta, ja sekoittamalla sitä varovasti 40-60 sekunnin ajan, kunnes jäädästä on jäljellä pieni jäämöhkäle.
4. Suorita kaikki seuraavat vaiheet steriileissä olosuhteissa virtaushupussa ja desinfioi kryopullo 70-prosenttisellä etanolilla ennen avaamista.
5. Avaa desinfioitu injektiopullo varovasti ja siirrä solususpensio 15 ml:n sentrifugiputkeen, joka sisältää 8 ml huoneenlämpöistä elatusainetta, varovasti sekoittaen.
6. Sentrifugoi seosta 300 x g:n voimakkuudella 3 minuutin ajan solujen erottamiseksi ja hävitä varovasti supernatantti, joka sisältää jäännöspakastusmediumia.
7. Suspendoidaan solupelletti varovasti uudelleen 10 ml:aan tuoretta elatusainetta. Jos solut ovat tarttuvia, jaa suspensio kahden T25-kolvin kesken; jos kyseessä ovat suspensioviljelmät, siirrä kaikki väliaine yhteen T25-kolviin solujen tehokkaan vuorovaikutuksen ja kasvun edistämiseksi.
8. Noudata vakiintuneita aliviljelyprotokollia solulinjan jatkuvan kasvun ja ylläpidon varmistamiseksi ja luotettavien kokeellisten tulosten varmistamiseksi.

Incubation Atmosphere

37 °C, 5 % CO_2 , kostutettu ilmakehä.

Flask Coating

Ei mitään

Freezing Procedure

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäädessä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

Shipping Conditions

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäädessä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

LLC-PK1-solut | 607264

**Storage
Conditions**

Pitkäaikaissäilytystä varten injektiopullot asetetaan höyryfaasissa olevaan nestemäiseen tyypeen noin -150 - -196 °C:een. Säilytys -80 °C:ssa on hyväksyttävää vain lyhyenä välivaiheena ennen siirtoa nestemäiseen tyypeen.

Laadunvalvonta / Geneettinen profiili / HLA

Sterility

Mykoplasmakontaminaatio suljetaan pois sekä PCR-pohjaisilla määrittelyillä että luminesenssiin perustuvilla mykoplasman osoitusmenetelmillä.

Bakteeri-, sieni- tai hiivakontaminaation välttämiseksi soluviljelmät tarkastetaan päivittäin silmämääräisesti.