

LLC-PK1 ląstelės | 607264

Bendra informacija

Description

LLC-PK1 ląstelės yra gerai žinoma ir biomediciniuose tyrimuose plačiai naudojama ląstelių linija. Šios ląstelės buvo gautos iš sveiko kiaulės patino inksto, pasižyminčio tipiška epitelio morfologija. LLC-PK1 linija yra poliarizuota ir turi sandarias jungtis, todėl yra idealus epitelinio audinio modelis.

Vienas iš svarbiausių LLC-PK1 ląstelių bruožų yra jų gebėjimas gaminti plazminogeno aktyvatorių - medžiagą, skatinančią fibrinolizę. Dėl šios savybės LLC-PK1 ląstelės tapo ypač vertingos atliekant trombozės tyrimus.

Pastaraisiais metais plazminogeno aktyvatorius buvo įtrauktas į trombozės gydymui naudojamų vaistų sudėtį, nes jis palengvina mažų kraujo krešulių tirpimą. LLC-PK1 ląstelės ne tik gamina plazminogeno aktyvatorių, bet ir didelį kiekį citokeratino. Dėl šios savybės jos tapo populiarios atliekant įvairius farmakologinius ir metabolinius tyrimus.

LLC-PK1 linija buvo naudojama vaistų metabolizmo, pernašos, toksiškumo ir sąveikos tyrimams. LLC-PK1 ląstelės taip pat dažnai naudojamos pralaidumo tyrimams. Uracilo pernašos mechanizmas skiriasi priklausomai nuo ląstelių linijų: Caco-2 ląstelėse veikia nuo Na⁺ nepriklausoma sistema bazolateralinėje membranoje, o LLC-PK1 ląstelėse - ir nuo Na⁺ priklausoma, ir nuo Na⁺ nepriklausoma sistemos apikalinėje membranoje.

Palyginti su kitomis ląstelių linijomis, LLC-PK1 ląstelėms būdinga daugelis proksimalinių kanalėlių ląstelių in vivo požymių, įskaitant apikalinės membranos mikrovilius, didelį apikalinės membranos fermentų aktyvumą, paratiroidinių hormonų receptorių ir nuo natrio priklausomų gliukozės pernešėjų raišką. Todėl LLC-PK1 ląstelės yra vertingas įrankis inkstų toksikologijos tyrimams. Kita inkstų toksikologiniams tyrimams dažnai naudojama ląstelių linija yra MDCK ląstelių linija. Kaip ir LLC-PK1 ląstelės, MDCK ląstelės yra epitelinės, tačiau pasižymi savybėmis, labiau būdingomis distalinių kanalėlių ląstelėms.

Jos ekspresuoja vazopresino, oksitocino ir prostaglandinų receptorių, kurie stimuliuojami aktyvuoja adenilatciklazę. LLC-PK1 ir MDCK ląstelių linijos greitai dauginasi ir gali būti lengvai dauginamos daug kartų viensluoksnėse kultūrose. LLC-PK1 ląstelės taip pat gali formuoti "kupolus", skysčio pripildytas pūsles, susidarancias dėl vandens ir tirpalų pernešimo, sandarių jungčių ir ląstelių sukibimo su substratu.

Apibendrinant galima teigti, kad LLC-PK1 ląstelių linija yra universali ir vertinga biomedicinių tyrimų priemonė. Ji plačiai naudojama atliekant įvairius vaistų metabolizmo, vaistų pernašos, toksiškumo, vaistų ir vaistų sąveikos, inkstų toksikologijos ir pralaidumo tyrimus. LLC-PK1 ląstelės yra idealus epitelinio audinio modelis, nes jos pasižymi gerai nusistovėjusia epitelio morfologija, plazminogeno aktyvatoriaus ir citokeratino gamyba.

Organism Sus Scrofa

Tissue Inkstai

Applications Vaistų metabolizmo, pralaidumo tyrimai, toksiškumo ir sąveikos tyrimai.

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

Charakteristikos

LLC-PK1 ląstelės | 607264

Breed/Subspecies	Hampšyras
Age	3-4 savaitės
Gender	Vyras
Morphology	epitelį panašus
Growth properties	Priglundęs

Reguliavimo duomenys

Citation	LLC-PK1 (Cytion katalogo numeris 607264)
Biosafety level	Ląstelių linijoje yra kiaulių C tipo onkoviruso (PCOV) sekų ir transkriptų. Užsikrėtimo būdas nenustatytas, todėl negalima atmesti viruso sekrecijos galimybių. Vokietijoje šie virusai priskiriami BSL 1 žmonėms ir BSL 2 gyvūnams (TRBA 462). Tačiau Vokietijos centrinis biologinės saugos komitetas (ZKBS) šiuos virusus ir infekuotas ląstelių linijas priskiria BSL 2 lygiui, taikomam genetinio modifikavimo tikslais.
NCBI_TaxID	9823
CellosaurusAccession	CVCL_0391

Biomolekuliniai duomenys

Viruses	Sudėtyje yra kiaulių C tipo onkoviruso (PCOV) sekų ir transkriptų. Virusų raiškos negalima atmesti.
Products	Plazminogeno aktyvatorius

Tvarkymas

Culture Medium	Terpė 199, w: 2,7 mM stabilus glutaminas, w: 2,2 g/L NaHCO ₃ , w: EBSS (Cytion straipsnio numeris 820101a)
Supplements	Papildykite terpę 3 % FBS
Dissociation Reagent	Accutase

LLC-PK1 ląstelės | 607264

Subculturing Surinkite ląstelių suspensiją į 15 ml mėgintuvėlį ir švelniai nuplaukite prilipusias ląsteles PBS, kuriame nėra kalcio ir magnio (naudokite 3-5 ml T25 kolboms ir 5-10 ml T75 kolboms). Užtepkite "Accutase" (1-2 ml T25 kolboms, 2,5 ml T75 kolboms), kad visiškai padengtumėte ląstelių sluoksnį. Leiskite ląstelėms 10 minučių inkubuotis kambario temperatūroje. Po inkubacijos sumaišykite ir centrifuguokite suspensiją ir prilipusias ląsteles. Po centrifugavimo atsargiai resuspenduokite ląstelių granules ir perkeltite ląstelių suspensiją į naujas kolbas su šviežia terpe.

Seeding density 1-3 x 10⁶ ląstelių/cm²

Fluid renewal Kas 3 dienas

Post-Thaw Recovery Atšildžius, išdėliokite ląsteles 5 x 10⁴ ląstelių/cm² tankumu ir leiskite ląstelėms atsigauti po užšaldymo proceso ir prisitvirtinti bent 24 valandas.

Freeze medium Kaip kriokonservavimo terpę naudojame visišką augimo terpę (įskaitant FBS) + 10 % DMSO, kad būtų užtikrintas tinkamas gyvybingumas po atšildymo, arba CM-1 (Cytion katalogo numeris 800100), kurioje yra optimizuotų osmoprotektorių ir medžiagų apykaitos stabilizatorių, kad būtų pagerintas atsigavimas ir sumažintas kriokonservavimo sukeltas stresas.

LLC-PK1 ląstelės | 607264

Thawing and Culturing Cells

1. Patikrinkite, ar pristatant buteliuką jis išlieka gerai užšaldytas, nes ląstelės gabenamos ant sauso ledo, kad gabenimo metu būtų palaikoma optimali temperatūra.
2. Gavę iš karto laikykite kriovialą žemesnėje nei -150°C temperatūroje, kad užtikrintumėte ląstelių vientisumo išsaugojimą, arba pereikite prie 3 veiksmo, jei reikia nedelsiant kultivuoti.
3. Jei norite nedelsiant pradėti kultivuoti, greitai atšildykite buteliuką panardindami jį į 37°C temperatūros vandens vonelę su švariu vandeniu ir antimikrobine priemone, švelniai maišydami 40-60 sekundžių, kol liks nedidelis ledo gabalėlis.
4. Visus tolesnius veiksmus atlikite steriliomis sąlygomis srauto gaubte, prieš atidarydami kriovialą dezinfekuokite jį 70 % etanoliu.
5. Atsargiai atidarykite dezinfekuotą buteliuką ir perpilkite ląstelių suspensiją į 15 ml centrifugos mėgintuvėlį, kuriame yra 8 ml kambario temperatūros mitybinės terpės, atsargiai išmaišykite.
6. Mišinį centrifuguokite 300 x g greičiu 3 minutes, kad atsiskirtų ląstelės, ir atsargiai išmeskite supernatantą su šaldymo terpės likučiais.
7. Švelniai resuspenduokite ląstelių granules 10 ml šviežios mitybinės terpės. Jei ląstelės yra prigludusios, suspensiją padalykite į dvi T25 kolbas; jei tai suspensinės kultūros, visą terpę perkelti į vieną T25 kolbą, kad paskatintumėte veiksmingą ląstelių sąveiką ir augimą.
8. Laikykitės nustatytų subkultūrų protokolų, kad ląstelių linija nuolat augtų ir būtų palaikoma, taip užtikrinant patikimus eksperimentų rezultatus.

Incubation Atmosphere

37°C , 5 % CO_2 , drėkintoje atmosferoje.

Flask Coating

Nėra

Freezing Procedure

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug -78°C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelti mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

Shipping Conditions

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug -78°C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelti mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

LLC-PK1 ląstelės | 607264

**Storage
Conditions**

Norėdami ilgai saugoti, įdėkite buteliukus į garų fazės skystą azotą maždaug -150-196 °C temperatūroje. Laikymas -80 °C temperatūroje yra priimtinas tik kaip trumpas tarpinis etapas prieš perkeliant į skystą azotą.

Kokybės kontrolė / Genetinis profilis / HLA

Sterility

Mikoplazmos užterštumas atmetamas taikant PGR pagrįstus tyrimus ir liuminescencinius mikoplazmos aptikimo metodus.

Siekiant užtikrinti, kad nebūtų užteršimo bakterijomis, grybeliais ar mielėmis, ląstelių kultūros kasdien vizualiai tikrinamos.