

LLC-PK1-cellen | 607264

Algemene informatie

Description

LLC-PK1-cellen zijn een gevestigde en veelgebruikte cellijn in biomedisch onderzoek. Deze cellen zijn afkomstig van een gezonde mannelijke varkensnier en vertonen een typische epitheliale morfologie. De LLC-PK1 lijn is gepolariseerd en bevat tight junctions, waardoor het een ideaal model is voor epitheelweefsel.

Een van de belangrijkste eigenschappen van LLC-PK1 cellen is hun vermogen om plasminogeen activator te produceren, een stof die fibrinolyse stimuleert. Deze eigenschap heeft LLC-PK1 cellen bijzonder waardevol gemaakt in tromboseonderzoek.

De afgelopen jaren is plasminogeenactivator opgenomen in medicijnen die gebruikt worden bij trombose therapieën, omdat het het oplossen van kleine bloedstolsels vergemakkelijkt. LLC-PK1 cellen produceren niet alleen plasminogeenactivatoren, maar ook grote hoeveelheden cytokeratine. Deze eigenschap heeft ze populair gemaakt voor verschillende farmacologische en metabole onderzoeken.

De LLC-PK1 lijn is gebruikt voor onderzoek naar het metabolisme, transport, toxiciteit en interactie van medicijnen. LLC-PK1 cellen worden ook vaak gebruikt in permeabiliteitstests. Het mechanisme van uracil transport verschilt per cellijn, met een Na⁺-onafhankelijk systeem op het basolaterale membraan in Caco-2 cellen en zowel Na⁺-afhankelijke als Na⁺-onafhankelijke systemen op het apicale membraan in LLC-PK1 cellen.

Vergeleken met andere cellijnen hebben LLC-PK1 cellen veel kenmerken van proximale tubulaire cellen in vivo, waaronder apicale membraan microvilli, hoge activiteiten van apicale membraan enzymen en expressie van parathyroïd hormoon receptoren en natriumafhankelijke glucose transporters. Dit maakt LLC-PK1 cellen tot een waardevol instrument in niertoxicologische studies. Een andere cellijn die vaak gebruikt wordt voor onderzoek naar niertoxiciteit is de MDCK-celijn. Net als LLC-PK1 cellen zijn MDCK cellen epitheelcellen, maar ze hebben kenmerken die meer typisch zijn voor distale tubulaire cellen.

Ze brengen vasopressine, oxytocine en prostaglandinereceptoren tot expressie, die bij stimulatie adenylaatcyclase activeren. LLC-PK1 en MDCK cellijnen vermenigvuldigen zich snel en kunnen gemakkelijk vele generaties lang gepasseerd worden in monolaagculturen. LLC-PK1 cellen zijn ook in staat om 'koepels' te vormen, met vloeistof gevulde blaren als gevolg van transport van water en opgeloste stoffen, tight junctions en hechting van de cellen aan het substraat.

Concluderend is de LLC-PK1 cellijn een veelzijdig en waardevol hulpmiddel voor biomedisch onderzoek. De lijn is op grote schaal gebruikt in verschillende onderzoeken naar het metabolisme van geneesmiddelen, het transport van geneesmiddelen, de toxiciteit van geneesmiddelen, interacties tussen geneesmiddelen en geneesmiddelen, niertoxicologie en permeabiliteitsbepalingen. Dankzij de gevestigde epitheliale morfologie en de productie van plasminogeenactivator en cytokeratine zijn LLC-PK1 cellen een ideaal model voor epitheelweefsel.

Organism Sus Scrofa

Tissue Nieren

Applications Geneesmiddelenmetabolisme, permeabiliteitstests, toxiciteit en interactiestudies.

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

LLC-PK1-cellen | 607264

Kenmerken

Breed/Subspecies	Hampshire
Age	3-4 weken
Gender	Mannelijk
Morphology	Epitheelachtig
Growth properties	Aanhangend

Regelgevende gegevens

Citation	LLC-PK1 (Cytion catalogusnummer 607264)
Biosafety level	De cellijn bevat sequenties en transcripten van het Porcine type-C oncovirus (PCOV). De infectiewijze is onbepaald en virale secretie kan niet worden uitgesloten. In Duitsland zijn deze virussen geclassificeerd als BSL 1 voor mensen en BSL 2 voor dieren (TRBA 462). De Duitse Centrale Commissie voor Biologische Veiligheid (ZKBS) classificeert deze virussen en geïnfecteerde cellijnen echter als BSL 2 voor toepassingen van genetische modificatie.
NCBI_TaxID	9823
CellosaurusAccession	CVCL_0391

Biomoleculaire gegevens

Viruses	Bevat sequenties en transcripten van het Porcine type-C oncovirus (PCOV). Virusexpressie kan niet worden uitgesloten.
Products	Plasminogeen activator

Omgaan met

Culture Medium	Medium 199, w: 2,7 mM stabiele Glutamine, w: 2,2 g/L NaHCO ₃ , w: EBSS (Cytion artikelnummer 820101a)
Supplements	Vul het medium aan met 3% FBS

LLC-PK1-cellen | 607264

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Verzamel de suspensiecellen in een buis van 15 ml en was de aanhangende cellen voorzichtig met PBS zonder calcium en magnesium (gebruik 3-5 ml voor T25-flesjes en 5-10 ml voor T75-flesjes). Breng Accutase aan (1-2 ml voor T25-flesjes, 2,5 ml voor T75-flesjes) en zorg dat de cellaag volledig bedekt wordt. Laat de cellen 10 minuten bij kamertemperatuur incuberen. Na de incubatie zowel de suspensie als de aanhangende cellen combineren en centrifugeren. Na het centrifugeren de celpellet voorzichtig resuspenderen en de celsuspensie overbrengen in nieuwe kolven met vers medium.

Split ratio Een verhouding van 1:3 tot 1:8 wordt aanbevolen

Seeding density 1 tot 3×10^6 cellen/cm²

Fluid renewal Om de 3 dagen

Post-Thaw Recovery Na ontdooien, de cellen op een plaat aanbrengen met een dichtheid van 5×10^4 cellen/cm² en de cellen minstens 24 uur laten herstellen van het invriesproces en zich hechten.

Freeze medium Als cryoconserveringsmedium gebruiken we volledig groeimedium (inclusief FBS) + 10% DMSO voor voldoende levensvatbaarheid na het ontdooien, of CM-1 (Cytion catalogusnummer 800100), dat geoptimaliseerde osmoprotectanten en metabolische stabilisatoren bevat om het herstel te verbeteren en door cryo geïnduceerde stress te verminderen.

LLC-PK1-cellen | 607264

Thawing and Culturing Cells

1. Controleer of de flacon bij levering diepgevroren blijft, aangezien de cellen op droog ijs worden verzonden om optimale temperaturen tijdens het transport te behouden.
2. Bewaar het cryoflesje na ontvangst onmiddellijk bij temperaturen lager dan $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ om de integriteit van de cellen te behouden, of ga verder met stap 3 als onmiddellijke kweek vereist is.
3. Voor onmiddellijke kweek: ontdooi de flacon snel door deze onder te dompelen in een waterbad van $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ met schoon water en een antimicrobieel middel, waarbij u 40-60 seconden zachtjes schudt totdat er een klein ijsklontje overblijft.
4. Voer alle volgende stappen uit onder steriele omstandigheden in een stromingskap en desinfecteer de cryoflacon met 70% ethanol voordat deze wordt geopend.
5. Open voorzichtig de gedesinfecteerde flacon en breng de celsuspensie over in een centrifugebuis van 15 ml met 8 ml kweekmedium op kamertemperatuur en meng voorzichtig.
6. Centrifugeer het mengsel gedurende 3 minuten bij $300 \times g$ om de cellen te scheiden en gooi het supernatant met resterend vriesmedium voorzichtig weg.
7. Resuspendeer de celpellet voorzichtig in 10 ml vers kweekmedium. Verdeel voor adherente cellen de suspensie over twee T25-kweekkolven; breng voor suspensiekweken al het medium over in één T25-kweekkolf om effectieve celinteractie en -groei te bevorderen.
8. Houd u aan de vastgestelde subcultuurprotocollen voor continue groei en onderhoud van de cellijn, om betrouwbare experimentele resultaten te garanderen.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , bevochtigde atmosfeer.

Flask Coating

Geen

Freezing Procedure

Gecryopreserveerde cellijnen worden verzonden op droog ijs in gevalideerde, geïsoleerde verpakkingen met voldoende koelmiddel om gedurende het transport ongeveer $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ te handhaven. Inspecteer de verpakking onmiddellijk na ontvangst en breng de flacons onverwijld over naar de juiste opslagplaats.

Shipping Conditions

Gecryopreserveerde cellijnen worden verzonden op droog ijs in gevalideerde, geïsoleerde verpakkingen met voldoende koelmiddel om gedurende het transport ongeveer $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ te handhaven. Inspecteer de verpakking onmiddellijk na ontvangst en breng de flacons onverwijld over naar de juiste opslagplaats.

LLC-PK1-cellen | 607264

Storage Conditions

Voor langdurige bewaring plaatst u flesjes in vloeibare stikstof in dampfase bij ongeveer -150 tot -196 °C. Opslag bij -80 °C is alleen aanvaardbaar als korte tussenstap vóór overbrenging naar vloeibare stikstof.

Kwaliteitscontrole / Genetisch profiel / HLA

Sterility

Mycoplasma-verontreiniging wordt uitgesloten met zowel PCR-gebaseerde testen als op luminescentie gebaseerde mycoplasma-detectiemethoden.

Om er zeker van te zijn dat er geen besmetting is met bacteriën, schimmels of gisten, worden de celculturen dagelijks onderworpen aan visuele inspecties.