Product sheet

LNCaP rakud | 300265

Üldine teave

Description	LNCaP-rakud, mis on saadud eesnäärmevähi patsiendi lümfisõlme metastaatilisest kahjustusest, on eesnäärmevähi uurimisel kriitiline vahend, eriti androgeenide ja androgeeni retseptori (AR) dünaamika rolli uurimiseks vähi progresseerumisel. LNCaP rakuliini iseloomustab androgeenitundlik kasv ja see annab ülevaate mehhanismidest, mis on aluseks eesnäärmevähi reaktsioonile hormonaalsele manipuleerimisele. Metastaatilise eesnäärmevähi mudelina pakuvad LNCaP vanemrakud ja nende alamliinid, nagu LNCaP kloon FGC, kliiniliselt asjakohast teavet haiguse progresseerumise kohta, eriti seoses metastaaside tekkimisega luudesse, moodustades osteoblastilisi kahjustusi, mis sarnanevad inimese eesnäärmevähi puhul täheldatud kahjustustega. Inimese eesnäärmevähi LNCaP rakuliin ekspresseerib AR-geeni mutatsioonivormi, millel on laiem steroidide sidumise spetsiifilisus, ja seetõttu on see AR-aktiivsuse ja eesnäärmevähi progresseerumise vahelise keerulise koostoime mõistmisel keskse tähtsusega. See hõlmab AR-i allavoolu sihtmärkide, nagu PSA ja NKx3.1, uurimist, mis on olulised eesnäärme epiteelirakkude toimimiseks. LNCaP rakke kasutatakse ka tsütotoksilisuse uuringutes, näiteks ripl'i poolt indutseeritud uuringutes või selliste ühendite nagu amügdaliin potentsiaalsete terapeutiliste mõjude uurimisel rakusiseste ravimite manustamisstrateegiate raames. Kokkuvõttes on inimese eesnäärmekartsinoomi rakuliin LNCaP nurgakivi androgeenide rolli mõistmisel vähi progresseerumises ja eesnäärmevähis, pakkudes teadmisi hormoonidele reageerivate vähivormide, resistentse eesnäärmevähi probleemide ja terapeutiliste sekkumiste võimaluste kohta. LNCaP rakuliini peetakse DU145 ja PC3 rakkude kõrval üheks klassikaliseks ja kõige laialdasemalt kasutatavaks inimese eesnäärmevähi rakuliiniks.
Organism	Inimene
Tissue	Eesnäärme
Disease	Kartsinoom
Metastatic site	Vasakpoolne supraklavikulaarne lümfisõlm
Synonyms	LNCAP, LNCap, Ln-Cap, eesnäärme lümfisõlmede kartsinoom

Omadused

Age	50 aastat
Gender	Mees
Ethnicity	Kaukaasia
Morphology	Epiteelilaadsed

LNCaP rakud | 300265

Growth properties	Kinnine, klastrid

Regulatiivsed andmed

Citation	LNCaP (Cytioni kataloginumber 300265)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_0395

Biomolekulaarsed andmed

Receptors expressed	Androgeen, östrogeen
Protein expression	P53 positiivne
Tumorigenic	Jah, alasti hiirtel
Products	Inimese eesnäärme happeline fosfataas, eesnäärme spetsiifiline antigeen
Karyotype	Pseudodiploidne isasloom, seitse markerkromosoomi, modaalne arv = 46, vahemik = 33 kuni 91

Töötlemine

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM stabiilne glutamiin, w: 2,0 g/L NaHCO3 (Cytioni artikli number 820700a)
Supplements	Täiendatakse keskkonda kuumuseliselt inaktiveeritud 10% FBS-iga
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	60 tundi

LNCaP rakud | 300265

Subculturing	Eemaldage kleepunud rakkudelt vana söötme ja peske neid PBS-ga, milles puudub kaltsium ja magneesium. T25 kolbide puhul kasutage 3-5 ml PBS-i ja T75 kolbide puhul 5-10 ml. Seejärel katke rakud täielikult Accutase'iga, kasutades 1-2 ml T25 kolbide puhul ja 2,5 ml T75 kolbide puhul. Laske rakkudel inkubeerida 8-10 minutit toatemperatuuril, et need eralduksid. Pärast inkubeerimist segage rakud ettevaatlikult 10 ml söötmega, et neid resuspenseerida, seejärel tsentrifuugige 3 minutit 300xg juures. Visake supernatant ära, suspenseerige rakud uuesti värskes keskkonnas ja viige need uutesse kolvidesse, mis sisaldavad juba värsket keskkonda.
Seeding density	1 kuni 2 x 10^4 rakku/cm^2
Fluid renewal	Iga 3 päeva tagant
Post-Thaw Recovery	Pärast sulatamist asetage rakud plaadile tihedusega 5 x $10^{4\ rakku}$/cm^2 ja laske rakkudel külmutamisprotsessist taastuda ja kinnituda vähemalt 24 tunni jooksul.
Freeze medium	Krüosäilitusvedelikusena kasutame täielikku kasvukeskkonda (sh FBS) + 10% DMSO, et tagada piisav elujõulisus pärast sulatamist, või CM-1 (Cytioni kataloginumber 800100), mis sisaldab optimeeritud osmoprotektante ja metaboolseid stabilisaatoreid, et parandada taastumist ja vähendada krüostressi.

LNCaP rakud | 300265

Thawing and Culturing Cells

1. Veenduge, et viaal jääb tarnimisel sügavkülmutatud, sest rakud transporditakse kuiva jääga, et säilitada optimaalne temperatuur transpordi ajal.

2. Pärast kättesaamist säilitage krüoviaal kas kohe temperatuuril alla -150 °C, et tagada rakkude terviklikkuse säilimine, või jätkake sammuga 3, kui on vaja koheselt kultiveerida.

3. Kohese kultiveerimise korral sulatage viaali kiiresti, kastes selle 37 °C veevanni puhta vee ja antimikroobse ainega, segades seda õrnalt 40-60 sekundit, kuni alles jääb väike jääklomp.

4. Tehke kõik järgmised toimingud steriilsetes tingimustes vooluhoodis, desinfitseerides krüoviaal enne avamist 70% etanooliga.

5. Avage desinfitseeritud viaali ettevaatlikult ja viige rakususpensioon ettevaatlikult segades 15 ml tsentrifuugitorusse, mis sisaldab 8 ml toatemperatuuril olevat kasvukeskkonda.

6. Rakkude eraldamiseks tsentrifuugige segu 300 x g juures 3 minutit ja visake ülejäänud külmutusvedelikku sisaldav supernatant ettevaatlikult ära.

7. Resuspendeerige rakupellet ettevaatlikult 10 ml värskes kasvukeskkonnas. Adhereeruvate rakkude puhul jagage suspensioon kahe T25 kultuurkolvi vahel; suspensioonikultuuride puhul kandke kogu söötmekeskkond ühte T25 kolbi, et soodustada rakkude tõhusat koostoimet ja kasvu.

8. Järgige kehtestatud subkultuuriprotokolle rakuliini jätkuvaks kasvuks ja säilitamiseks, tagades usaldusväärsed katsetulemused.

Incubation Atmosphere	37°C, 5% $_{CO2}$, niisutatud atmosfäär.
Flask Coating	Puudub
Freezing Procedure	Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu -78 °C. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige viaalid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.
Shipping Conditions	Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu -78 °C. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige viaalid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

Storage Conditions	Pikaajaliseks säilitamiseks asetage viaalid aurufaasis vedela lämmastikuga umbes -150 kuni -196 °C juures. Säilitamine temperatuuril -80 °C on vastuvõetav ainult lühikese vaheetapina enne vedela lämmastikuga üleviimist.

Kvaliteedikontroll ja molekulaaranalüüs

Sterility	Mükoplasmakontaminatsioon on välistatud nii PCR-põhiste analüüside kui ka luminestsentsil põhinevate mükoplasma tuvastamise meetodite abil. Bakteriaalse, seene- või pärmsaaste puudumise tagamiseks kontrollitakse rakukultuure iga päev visuaalselt.

HLA alleles	**A***: '01:01:01, '02:01:01 **B***: '08:01:01, '37:01:01 **C***: '06:02:01, '07:01:01 **DRB1***: '03:01:01, '10:01:01 **DQA1***: '01:05:01, '05:01:01 **DQB1***: '02:01:01, '05:01:01 **DPB1***: '02:01:02G, '04:02:01G **E**: '01:01:01