

LNCaP rakud | 300265

Üldine teave

Description

LNCaP-rakud, mis on saadud eesnäärmevähi patsiendi lümfisõlme metastaatilise 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 annavad LNCaP vanemrakud ja nende alamliinid, näiteks LNCaP kloon FGC, kliiniliselt asjakohaseid teadmisi 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 sihtmärke, 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 katalooginumber 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 rakkudel 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 2×10^4 rakku/cm²

Fluid renewal Iga 3 päeva tagant

Post-Thaw Recovery Pärast sulatamist asetage rakud plaadile tihedusega 5×10^4 rakku/cm² 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 katalooginumber 800100), mis sisaldab optimeeritud osmoprotektante ja metaboolseid stabilisaatoreid, et parandada taastumist ja vähendada krüostressi.

LNCaP rakud | 300265

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Veenduge, et vial jääb tarnimisel sügavkülmutatud, sest rakud transporditakse kuiva jääga, et säilitada optimaalne temperatuur transpordi ajal.
2. Pärast kättesaamist säilitage krüoviaal kas kohe temperatuuril alla $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, et tagada rakkude terviklikkuse säilimine, või jätkake sammuga 3, kui on vaja koheselt kultiveerida.
3. Kohese kultiveerimise korral sulatage viali kiiresti, kastes selle $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ 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 viali ettevaatlikult ja viige raku suspensioon ettevaatlikult segades 15 ml tsentrifuugitorusse, mis sisaldab 8 ml toatemperatuuril olevat kasvukeskkonda.
6. Rakkude eraldamiseks tsentrifuugige segu $300 \times g$ juures 3 minutit ja visake ülejäänud külmutusvedelikku sisaldav supernatant ettevaatlikult ära.
7. Resuspendeerige rakupellet ettevaatlikult 10 ml värskes kasvukeskkonnas. Adhereerivate rakkude puhul jagage suspensioon kahe T25 kultuurkolvi vahel; suspensioonikultuuride puhul kandke kogu söötme keskkond ühte T25 kolbi, et soodustada rakkude tõhusat koostoimet ja kasvu.
8. Järgige kehtestatud subkultuuriprotokolle rakuliini jätkuvaks kasvuks ja säilitamiseks, tagades usaldusväärsed katsetulemused.

**Incubation
Atmosphere**

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , 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 $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

**Shipping
Conditions**

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

LNCaP rakud | 300265

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 / Geneetiline profiil / HLA

Sterility

Mükoplasmakontaminatsioon on välistatud nii PCR-põhiste analüüside kui ka luminesentsil 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