

LNCaP-solut | 300265

Yleisiä tietoja

Description

LNCaP-solut, jotka on saatu eturauhassyöpöpotilaan imusolmukkeessa olevasta metastaattisesta leesiosta, ovat kriittinen väline eturauhassyövän tutkimuksessa, erityisesti androgeenien ja androgeenireseptorin (AR) dynamiikan roolin tutkimisessa syövän etenemisessä. LNCaP-solulinjalle on ominaista androgeenille herkkä kasvu, ja se tarjoaa ikkunan mekanismeihin, jotka ovat eturauhassyövän vasteen taustalla hormonaaliseen manipulointiin.

Metastaattisen eturauhassyövän mallina LNCaP:n vanhemmat solut ja niiden alalinjat, kuten LNCaP-klooni FGC, tarjoavat kliinisesti merkityksellistä tietoa taudin etenemisestä, erityisesti luustoon metastaasien muodostamisen yhteydessä, sillä ne muodostavat osteoblastisia leesioita, jotka ovat samankaltaisia kuin ihmisen eturauhassyövässä havaitut.

LNCaP-ihmisen eturauhassyöpösolulinja ilmentää AR-geenin mutatoitunutta muotoa, jolla on laajempi steroidien sitoutumis spesifisyys, ja siksi se on keskeinen AR-aktiivisuuden ja eturauhassyövän etenemisen välisen monimutkaisen vuorovaikutuksen ymmärtämisessä. Tähän sisältyy AR:n jatkohteiden, kuten PSA:n ja NKx3.1:n, tutkiminen, sillä ne ovat ratkaisevia eturauhasen epiteelisolujen toiminnalle. LNCaP-soluja käytetään myös sytotoksisuustutkimuksissa, kuten ripl:n aiheuttamissa tutkimuksissa tai amygdaliinin kaltaisten yhdisteiden mahdollisten terapeuttisten vaikutusten tutkimisessa solunsisäisten lääkkeiden jakelustrategioiden puitteissa.

Yhteenvetona voidaan todeta, että ihmisen eturauhaskarsinooman LNCaP-solulinja toimii kulmakivenä androgeenien roolin ymmärtämisessä syövän etenemisessä ja eturauhassyövässä, ja se tarjoaa tietoa hormoneihin reagoivista syövästä, resistentin eturauhassyövän haasteista ja terapeuttisten interventoiden mahdollisuuksista. LNCaP-solulinjaa pidetään DU145- ja PC3-solujen ohella yhtenä klassisista ja yleisimmin käytetyistä ihmisen eturauhassyöpösolulinjoista.

Organism Ihminen

Tissue Eturauhanen

Disease Syöpä

Metastatic site Vasen supraklavikulaarinen imusolmuke

Synonyms LNCAP, LNCap, Ln-Cap, eturauhasen imusolmukesyöpä

Ominaisuudet

Age 50 vuotta

Gender Mies

Ethnicity Kaukasialainen

LNCaP-solut | 300265

Morphology Epiteelin kaltainen

Growth properties Tarttuvat, klusterit

Säätelytiedot

Citation LNCaP (Cytionin luettelonumero 300265)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_0395

Biomolekyyli tiedot

Receptors expressed Androgeeni, estrogeeni

Protein expression P53-positiivinen

Tumorigenic Kyllä, alastomilla hiirillä

Products Ihmisen eturauhasen happofosfataasi, eturauhaspesifinen antigeeni

Karyotype Pseudodiploidi uros, seitsemän merkkikromosomia, modaaliluku = 46, vaihteluväli = 33-91

Käsittely

Culture Medium RPMI 1640, w: 2,0 mM stabiilia glutamiinia, w: 2,0 g/L NaHCO₃ (Cytionin artikkelinumero 820700a)

Supplements Täydennetään elatusainetta lämpöinaktivoidulla 10 %:lla FBS:llä

Dissociation Reagent Accutase

Doubling time 60 tuntia

LNCaP-solut | 300265

Subculturing Poista vanha väliaine tarttuneista soluista ja pese ne PBS:llä, josta puuttuu kalsiumia ja magnesiumia. Käytä T25-pulloissa 3-5 ml PBS:ää ja T75-pulloissa 5-10 ml. Peitä sitten solut kokonaan Accutase-valmisteella, käyttäen 1-2 ml T25-pulloissa ja 2,5 ml T75-pulloissa. Anna solujen inkuboitua huoneenlämmössä 8-10 minuuttia solujen irtoamiseksi. Inkuboinnin jälkeen solut sekoitetaan varovasti 10 ml:n väliaineella niiden resuspendoimiseksi ja sentrifugoidaan sitten 300xg:n nopeudella 3 minuutin ajan. Hävitä supernatantti, suspendoi solut uudelleen tuoreessa väliaineessa ja siirrä ne uusiin pulloihin, jotka sisältävät jo tuoretta väliaineita.

Seeding density 1-2 x 10⁴ 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 osmoprotectantteja ja metabolisia stabilisaattoreita, jotka parantavat elpymistä ja vähentävät kryosäilytyksen aiheuttamaa stressiä.

LNCaP-solut | 300265

**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.

LNCaP-solut | 300265

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.

HLA-alleelit

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