Product sheet

LNCaP-solut | 300265

Yleisiä tietoja

Description	LNCaP-solut, jotka on saatu eturauhassyöpäpotilaan 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 eturauhassyöpäsolulinja ilmentää AR-geenin mutatoitunutta muotoa, jolla on laajempi steroidien sitoutumispesifisyys, ja siksi se on keskeinen AR-aktiivisuuden ja eturauhassyövän etenemisen välisen monimutkaisen vuorovaikutuksen ymmärtämisessä. Tähän sisältyy AR:n jatkokohteiden, 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 syövistä, resistentin eturauhassyövän haasteista ja terapeuttisten interventioiden mahdollisuuksista. LNCaP-solulinjaa pidetään DU145- ja PC3-solujen ohella yhtenä klassisista ja yleisimmin käytetyistä ihmisen eturauhassyöpäsolulinjoista.
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

Sääntelytiedot

Citation	LNCaP (Cytionin luettelonumero 300265)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_0395

Biomolekyylitiedot

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 tuoreeseen väliaineeseen ja siirrä ne uusiin pulloihin, jotka sisältävät jo tuoretta väliaineita.
Seeding density	1–2 x 10^4 solua/cm^2
Fluid renewal	3 päivän välein
Post-Thaw Recovery	Sulattamisen jälkeen levitä solut 5 x 10^4 solua/cm^2 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 syväjäädytettynä toimitettaessa, sillä solut kuljetetaan kuivajäässä, jotta optimaalinen lämpötila säilyy kuljetuksen aikana.
2. Vastaanotettaessa 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 mikrobilääkettä, ja sekoittamalla sitä varovasti 40-60 sekunnin ajan, kunnes jäästä on jäljellä pieni jäämöhkäle.
4. Suorita kaikki seuraavat vaiheet steriileissä olosuhteissa virtaushupussa ja desinfioi kryopullo 70-prosenttisella 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 % $_{CO2}$, kostutettu ilmakehä.
Flask Coating	Ei mitään
Freezing Procedure	Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäässä 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 kuivajäässä 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.

Storage Conditions	Pitkäaikaissäilytystä varten injektiopullot asetetaan höyryfaasissa olevaan nestemäiseen typpeen noin -150 - -196 °C:een. Säilytys -80 °C:ssa on hyväksyttävää vain lyhyenä välivaiheena ennen siirtoa nestemäiseen typpeen.

Laadunvalvonta ja molekyylianalyysi

Sterility	Mykoplasmakontaminaatio suljetaan pois sekä PCR-pohjaisilla määrityksillä 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