Product sheet

LNCaP šūnas | 300265

Vispārīga informācija

Description	LNCaP šūnas, kas iegūtas no prostatas vēža pacienta limfmezgla metastātiska bojājuma, ir ļoti svarīgs instruments prostatas vēža pētniecībā, jo īpaši, lai pētītu androgēnu un androgēnu receptoru (AR) dinamikas lomu vēža progresēšanā. LNCaP šūnu līnijai ir raksturīga pret androgēniem jutīga augšana, un tā ļauj iepazīt mehānismus, kas ir prostatas vēža reakcijas uz hormonālām manipulācijām pamatā. Kā metastātiska prostatas vēža modelis vecāku LNCaP šūnas un to apakšlīnijas, piemēram, LNCaP klons FGC, sniedz klīniski nozīmīgu ieskatu slimības progresijā, jo īpaši saistībā ar metastāzēm kaulos, veidojot osteoblastiskus bojājumus, kas līdzīgi tiem, kas novēroti cilvēka prostatas vēža gadījumā. LNCaP cilvēka prostatas vēža šūnu līnija ekspresē mutētu AR gēna formu ar plašāku steroīdu saistīšanas specifiskumu, tāpēc tā ir ļoti svarīga, lai izprastu sarežģīto mijiedarbību starp AR aktivitāti un prostatas vēža progresēšanu. Tas ietver AR pakārtoto mērķu, piemēram, PSA un NKx3.1, kas ir būtiski prostatas epitēlija šūnu funkcijām, izpēti. LNCaP šūnas tiek izmantotas arī citotoksicitātes pētījumos, piemēram, ripl izraisītā citotoksicitātes pētījumos vai tādu savienojumu kā amigdalīns potenciālās terapeitiskās iedarbības pētījumos, izmantojot intracelulārās zāļu piegādes stratēģijas. Kopumā cilvēka prostatas karcinomas šūnu līnija LNCaP kalpo par stūrakmeni, lai izprastu androgēnu lomu vēža progresēšanā un prostatas vēža attīstībā, sniedzot ieskatu par hormonreaktīviem vēža veidiem, rezistenta prostatas vēža problēmām un terapeitiskās iejaukšanās iespējām. LNCaP šūnu līnija līdzās DU145 un PC3 šūnām tiek uzskatīta par vienu no klasiskajām un visplašāk izmantotajām cilvēka prostatas vēža šūnu līnijām.
Organism	Cilvēks
Tissue	Prostatas
Disease	Karcinoma
Metastatic site	Kreisais virsklaiviskais limfmezgls
Synonyms	LNCAP, LNCap, Ln-Cap, Prostatas limfmezglu karcinoma

Raksturojums

Age	50 gadi
Gender	Vīrieši
Ethnicity	Kaukāzietis
Morphology	Epitēlijveidīgs

LNCaP šūnas | 300265

Growth properties	Pieguļošas, kopas

Normatīvie dati

Citation	LNCaP (Cytion kataloga numurs 300265)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_0395

Biomolekulārie dati

Receptors expressed	Androgēns, estrogēns
Protein expression	P53 pozitīvs
Tumorigenic	Jā, kailām pelēm
Products	Cilvēka prostatas skābes fosfatāze, prostatas specifiskais antigēns
Karyotype	Pseidodiploīds tēviņš, septiņas marķieru hromosomas, modālais skaits = 46, diapazons = 33 līdz 91

Darbs ar

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM stabils glutamīns, w: 2,0 g/L NaHCO3 (Cytion izstrādājuma numurs 820700a)
Supplements	Papildiniet barotni ar termiski inaktivētu 10% FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	60 stundas

LNCaP šūnas | 300265

Subculturing	Noņemt veco barotni no pielipušajām šūnām un mazgāt tās ar PBS, kurā nav kalcija un magnija. T25 kolbām izmantojiet 3-5 ml PBS, bet T75 kolbām - 5-10 ml. Pēc tam pilnībā pārklājiet šūnas ar Accutase, izmantojot 1-2 ml T25 kolbām un 2,5 ml T75 kolbām. Ļaujiet šūnām inkubēties istabas temperatūrā 8-10 minūtes, lai tās atdalītos. Pēc inkubācijas uzmanīgi samaisiet šūnas ar 10 ml barotnes, lai tās atkārtoti suspendētu, pēc tam centrifugējiet 3 minūtes ar 300xg. Izmetiet supernatantu, atkārtoti suspendējiet šūnas svaigā barotnē un pārvietojiet tās jaunās kolbās, kurās jau ir svaiga barotne.
Seeding density	1 līdz 2 x 10^4 šūnas/cm^2
Fluid renewal	Ik pēc 3 dienām
Post-Thaw Recovery	Pēc atkausēšanas izkliedējiet šūnas uz šķīvja ar blīvumu 5 x 10^4 šūnas/cm^2 un ļaujiet šūnām atgūties no sasaldēšanas procesa un pielipt vismaz 24 stundas.
Freeze medium	Kā kriokonservēšanas barotni mēs izmantojam pilnvērtīgu augšanas barotni (ieskaitot FBS) + 10 % DMSO, lai nodrošinātu pietiekamu dzīvotspēju pēc atkausēšanas, vai CM-1 (Cytion kataloga numurs 800100), kas ietver optimizētus osmoprotektorus un metaboliskos stabilizatorus, lai uzlabotu atveseļošanos un samazinātu krioinducēto stresu.

Thawing and Culturing Cells	1. Pārliecinieties, ka pēc piegādes flakons paliek dziļi sasaldēts, jo šūnas tiek sūtītas uz sausā ledus, lai pārvadāšanas laikā saglabātu optimālu temperatūru. 2. Pēc saņemšanas vai nu nekavējoties uzglabāt kriovialu temperatūrā, kas zemāka par -150 °C, lai nodrošinātu šūnu integritātes saglabāšanu, vai arī turpināt 3. posmu, ja nepieciešama tūlītēja kultivēšana. 3. Tūlītējas kultivēšanas gadījumā ātri atkausējiet flakonu, iegremdējot to 37°C ūdens vannā ar tīru ūdeni un antibakteriālu līdzekli, viegli maisot 40-60 sekundes, līdz paliek neliels ledus gabaliņš. 4. Visas turpmākās darbības veiciet sterilos apstākļos plūsmas nosūcējā, pirms atvēršanas dezinficējot kriovialu ar 70% etanolu. 5. Uzmanīgi atveriet dezinficēto flakonu un pārnesiet šūnu suspensiju 15 ml centrifūgas mēģenē, kurā ir 8 ml istabas temperatūras barotnes, uzmanīgi samaisot. 6. Centrifugējiet maisījumu ar 300 x g 3 minūtes, lai atdalītu šūnas, un uzmanīgi izmetiet virskārtu, kas satur saldēšanas barotnes atlikumus. 7. Viegli resuspendēt šūnu granulas 10 ml svaigas barotnes. Adhēzijas šūnu gadījumā suspensiju sadalīt divās T25 kolbās; suspensijas kultūrām visu barotni pārnest vienā T25 kolbā, lai veicinātu efektīvu šūnu mijiedarbību un augšanu. 8. Ievērojiet noteiktos subkultūru protokolus, lai nodrošinātu nepārtrauktu šūnu līnijas augšanu un uzturēšanu, tādējādi nodrošinot uzticamus eksperimentu rezultātus.
Incubation Atmosphere	37°C, 5% $_{CO2}$, mitrināta atmosfēra.
Flask Coating	Neviens
Freezing Procedure	Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidruma daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

LNCaP šūnas | 300265

Shipping Conditions	Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidruma daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.
Storage Conditions	Ilgstošai uzglabāšanai flakonus ievietojiet šķidrā slāpeklī ar tvaika fāzi aptuveni -150 līdz -196 °C temperatūrā. Uzglabāšana -80 °C temperatūrā ir pieļaujama tikai kā īss starpposms pirms pārvietošanas uz šķidro slāpekli.

Kvalitātes kontrole un molekulārā analīze

Sterility	Mikoplazmas piesārņojums tiek izslēgts, izmantojot gan uz PCR balstītus testus, gan uz luminiscenci balstītas mikoplazmas noteikšanas metodes. Lai pārliecinātos, ka nav baktēriju, sēnīšu vai rauga piesārņojuma, šūnu kultūras katru dienu vizuāli pārbauda.
HLA alēles	**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