Product sheet

C4-2 rakud | 305752

Üldine teave

Description	C4-2 rakuliin on androgeenist sõltumatu inimese eesnäärmevähi mudel, mis on saadud LNCaP vanemrakuliinist. See loodi järkjärgulise in vivo selektsiooniprotsessi abil, mis hõlmas LNCaP rakkude ja inimese luustroomi rakkude (MS-rakkude) koosinjektsiooni kastreeritud immuunpuudulikkusega hiirtele, mis viis androgeenitundlike kasvajate tekkimiseni. C4-2 alamliin saadi spetsiifiliselt C4-variandist pärast edasist passageerimist kastreeritud peremeestes ning see säilitab võime kasvada ja moodustada kasvajaid androgeenivaesetes tingimustes ilma stroomi toetuseta. C4-2 rakud säilitavad eesnäärme-spetsiifilise antigeeni (PSA) tootmise ja androgeeni retseptori (AR) ekspressiooni, sealhulgas LNCaP-lt päritud iseloomulikku T877A AR punktmutatsiooni, kuid näitavad vähenenud androgeenivastust võrreldes vanemliiniga. Kui LNCaP rakud vajavad kasvuks androgeene, siis C4-2 rakud paljunevad androgeenivabas keskkonnas ja ekspresseerivad jätkuvalt PSA ja AR-reguleeritud geene, mis teeb neist tugeva mudeli kastratsiooniresistentse eesnäärmevähi (CRPC) jaoks. In vitro kasvavad C4-2 rakud kiiremini kui LNCaP standardkultuuritingimustes ja neil on ka parem kasvajate teke in vivo. Kui C4-2 rakud süstitakse nahaaluse süstimise teel immuunpuudulikkusega hiirtele, moodustavad nad kergesti kasvajaid, mis on vastuolus LNCaP rakkude aeglasema või vähem järjepideva kasvajapotentsiaaliga. C4-2 mudelit on laialdaselt kasutatud androgeenide deprivatsiooniteraapia (ADT) suhtes resistentsuse mehhanismide, intrakriinsete androgeenide metabolismi rolli ja CRPC progresseerumist toetavate molekulaarsete radade uurimiseks. Mudelis säilib eesnäärme-spetsiifilise membraani antigeeni (PSMA) ekspressioon, kuigi madalamal tasemel kui LNCaP, ning see reageerib ainulaadselt androgeenide stimuleerimisele ja antiandrogeenravile. Need omadused muudavad C4-2 mudeli nurgakiviks uute, kaugelearenenud eesnäärmevähile suunatud ravimeetodite hindamisel.
Organism	Inimene
Tissue	Metastaatiline
Disease	Eesnäärme kantsinoom
Synonyms	LNCaP-C4-2, LNCaP alaliine C4-2, C4-2, C42, Sp 2817

Omadused

Age	50 aastat
Gender	Mees
Ethnicity	Kaukaasia
Morphology	Epiteelilaadsed

C4-2 rakud | 305752

Growth properties	Kinnipeetav

Regulatiivsed andmed

Citation	C4-2 (Cytioni kataloginumber 305752)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_4782

Biomolekulaarsed andmed

Mutational profile	Mutatsioon: AR, Simple, p.Thr878Ala (c.2632A>G), Hemizygous. Mutatsioon, MEN1, Simple, p.Tyr318Ter (c.954T>G) (p.Tyr313Ter, c.939T>A), heterosügootne (vanemate rakuliinist).Mutatsioon, PIK3R1, Simple, p.Arg639Ter (c.1915C>T), heterosügootne (vanemrakuliinist).Mutatsioon, PTEN, Simple, p.Lys6Argfs*4 (c.17_18delAA), määramata (vanemrakuliinist).

Töötlemine

Culture Medium	DMEM:Hams F12 (4:1)
Supplements	Lisage kasvukeskkonnale 10% hia FBS-i
Seeding density	2–3 x 10^4 rakku/cm2
Fluid renewal	2 kuni 3 korda nädalas
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.

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
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

C4-2 rakud | 305752

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.