

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 luustroomirakkude (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 katalooginumber 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

Seeding density	2–3 x 10 ⁴ rakku/cm ²
------------------------	---

Fluid renewal	2 kuni 3 korda nädalas
----------------------	------------------------

Freeze medium	Krüsäilitusvedelikusena 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.
----------------------	---

C4-2 rakud | 305752

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 tsentrifugeerige 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

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.

Storage Conditions

Pikaajaliseks säilitamiseks asetage vialid aurufaasis vedela lämmastikuga umbes -150 kuni $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$ juures. Säilitamine temperatuuril $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ on vastuvõetav ainult lühikese vaheetapina enne vedela lämmastikuga üleviimist.

Kvaliteedikontroll / Geneetiline profiil / HLA

C4-2 rakud | 305752

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.