Product sheet

C4-2-solut | 305752

Yleisiä tietoja

Description	C4-2-solulinja on androgeeniriippumaton ihmisen eturauhassyöpämalli, joka on johdettu LNCaP-solulinjasta. Se perustettiin vaiheittaisella in vivo -valintaprosessilla, jossa LNCaP-soluja ja ihmisen luustromosoluja (MS-soluja) ruiskutettiin yhdessä kastroiduille immuunipuutteisille hiirille, mikä johti androgeeni-sensitiivisten kasvainten syntyyn. C4-2-alalinja johdettiin nimenomaan C4-variantista sen jälkeen, kun se oli edelleen kulkeutunut kastroiduissa isännissä, ja sillä on edelleen kyky kasvaa ja muodostaa kasvaimia androgeenivajeisissa olosuhteissa ilman stroomatukea. C4-2-solut säilyttävät eturauhaspesifisen antigeenin (PSA) tuotannon ja androgeenireseptorin (AR) ilmentymisen, mukaan lukien LNCaP:stä periytyvä tyypillinen T877A AR-pistemutaatio, mutta niillä on heikentynyt androgeenireagoivuus verrattuna emolinjaan. Vaikka LNCaP-solut tarvitsevat androgeeneja kasvuunsa, C4-2-solut lisääntyvät androgeenivapaassa ympäristössä ja ilmentävät edelleen PSA:ta ja AR:n säätelemiä geenejä, mikä tekee niistä vankan mallin kastraatioresistentille eturauhassyövälle (CRPC). In vitro C4-2-solut kasvavat nopeammin kuin LNCaP-solut tavanomaisissa viljelyolosuhteissa, ja ne ovat myös in vivo kasvainvaikuttavuudeltaan parempia. Kun C4-2-solut ruiskutetaan ihon alle immuunipuutteisiin hiiriin, ne muodostavat helposti kasvaimia, mikä on ristiriidassa LNCaP-solujen hitaamman tai vähemmän johdonmukaisen kasvainpotentiaalin kanssa. C4-2-mallia on käytetty laajalti androgeeninpoistohoidon (ADT) resistenssimekanismien, intrakriinisen androgeenimetabolian roolin ja CRPC:n etenemistä tukevien molekyylireittien tutkimiseen. Malli säilyttää eturauhaspesifisen kalvoantigeenin (PSMA) ilmentymisen, vaikkakin alhaisemmalla tasolla kuin LNCaP, ja siinä on ainutlaatuisia vasteita androgeenistimulaatiolle ja antiandrogeenihoidoille. Nämä ominaisuudet tekevät C4-2:sta kulmakivimallin eturauhassyövän pitkälle edenneeseen vaiheeseen kohdistuvien uusien terapioiden arvioinnissa.
Organism	Ihminen
Tissue	Metastaattinen
Disease	Eturauhasen syöpä
Synonyms	LNCaP-C4-2, LNCaP-alalinja C4-2, C4-2, C42, Sp 2817

Ominaisuudet

Age	50 vuotta
Gender	Mies
Ethnicity	Kaukasialainen
Morphology	Epiteelin kaltainen

C4-2-solut | 305752

Growth properties	Tarttuva

Sääntelytiedot

Citation	C4-2 (Cytionin luettelonumero 305752)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_4782

Biomolekyylitiedot

Mutational profile	Mutaatio: AR, yksinkertainen, p.Thr878Ala (c.2632A>G), hemizygootti. Mutaatio, MEN1, Simple, p.Tyr318Ter (c.954T>G) (p.Tyr313Ter, c.939T>A), Heterotsygoottinen (vanhemman solulinjasta).Mutaatio, PIK3R1, Simple, p.Arg639Ter (c.1915C>T), heterotsygoottinen (kantasolulinjasta).Mutaatio, PTEN, yksinkertainen, p.Lys6Argfs*4 (c.17_18delAA), määrittämätön (kantasolulinjasta).

Käsittely

Culture Medium	DMEM:Hams F12 (4:1)
Supplements	Lisää elatusaineeseen 10 % hia FBS:ää
Seeding density	2–3 x 10^4 solua/cm2
Fluid renewal	2-3 kertaa viikossa
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.

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
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

C4-2-solut | 305752

Sterility	Mykoplasmakontaminaatio suljetaan pois sekä PCR-pohjaisilla määrityksillä että luminesenssiin perustuvilla mykoplasman osoitusmenetelmillä. Bakteeri-, sieni- tai hiivakontaminaation välttämiseksi soluviljelmät tarkastetaan päivittäin silmämääräisesti.