Product sheet

C4-2 šūnas | 305752

Vispārīga informācija

Description	C4-2 šūnu līnija ir no androgēniem neatkarīgs cilvēka prostatas vēža modelis, kas atvasināts no vecākās LNCaP šūnu līnijas. To izveidoja, izmantojot pakāpenisku in vivo selekcijas procesu, kurā LNCaP šūnas kopā ar cilvēka kaulu stromālajām šūnām (MS šūnām) injicēja kastrētām imūndeficītām pelēm, kā rezultātā radās pret androgēniem nejutīgi audzēji. C4-2 apakšlīnija tika īpaši atvasināta no C4 varianta pēc turpmākas pasāžas kastrētiem saimniekiem, un tā saglabā spēju augt un veidot audzējus androgēnu deficīta apstākļos bez stromālā atbalsta. C4-2 šūnas saglabā prostatas specifiskā antigēna (PSA) veidošanos un androgēnu receptora (AR) ekspresiju, tostarp raksturīgo T877A AR punktu mutāciju, kas pārmantota no LNCaP, bet uzrāda samazinātu reaģētspēju uz androgēniem salīdzinājumā ar vecāku līniju. Lai gan LNCaP šūnām augšanai ir nepieciešami androgēni, C4-2 šūnas vairojas vidē, kurā nav androgēnu, un turpina ekspresēt PSA un AR regulētos gēnus, tādējādi tās ir stabils modelis pret kastrāciju rezistentam prostatas vēzim (CRPC). In vitro C4-2 šūnas standarta kultūras apstākļos aug ātrāk nekā LNCaP, un tām piemīt arī labāka audzējamība in vivo. Ievadot zemādas injekciju imūnkompromitētām pelēm, C4-2 šūnas viegli veido audzējus, un šī īpašība kontrastē ar lēnāku vai mazāk konsekventu LNCaP šūnu tumorigenitāti. C4-2 modelis ir plaši izmantots, lai pētītu rezistences mehānismus pret androgēnu deprivācijas terapiju (ADT), intracirīniskā androgēnu metabolisma nozīmi un molekulāros ceļus, kas ir CRPC progresēšanas pamatā. Tas saglabā prostatas specifiskā membrānas antigēna (PSMA) ekspresiju, lai gan zemākā līmenī nekā LNCaP, un uzrāda unikālu reakciju uz androgēnu stimulāciju un antiandrogēnu terapiju. Šīs īpašības padara C4-2 par stūrakmeni jaunu terapeitisko līdzekļu, kas paredzēti progresējuša prostatas vēža ārstēšanai, novērtēšanai.
Organism	Cilvēks
Tissue	Metastātisks
Disease	Prostatas karcinoma
Synonyms	LNCaP-C4-2, LNCaP apakšlīnija C4-2, C4-2, C42, Sp 2817

Raksturojums

Age	50 gadi
Gender	Vīrieši
Ethnicity	Kaukāzietis
Morphology	Epitēlijveidīgs
Growth properties	Adherent

Product sheet

C4-2 šūnas | 305752

Normatīvie dati

Citation	C4-2 (Cytion kataloga numurs 305752)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_4782

Biomolekulārie dati

Mutational profile	Mutācija: Thr878Ala (c.2632A>G), hemizigotiska. Mutācija: MEN1, vienkārša, p.Tyr318Ter (c.954T>G) (p.Tyr313Ter, c.939T>A), heterozigotiska (no vecāku šūnu līnijas).Mutācija: PIK3R1, vienkārša, p.Arg639Ter (c.1915T>A), heterozigotiskaC>T), heterozigotiska (no mātes šūnu līnijas). mutācija, PTEN, vienkārša, p.Lys6Argfs*4 (c.17_18delAA), neprecizēta (no mātes šūnu līnijas).

Darbs ar

Culture Medium	DMEM:Hams F12 (4:1)
Supplements	Papildiniet barotni ar 10 % hia FBS
Seeding density	2–3 x 10^4 šūnas/cm2
Fluid renewal	2 līdz 3 reizes nedēļā
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.

C4-2 šūnas | 305752

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
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.