Product sheet

Komórki C4-2 | 305752

Informacje ogólne

Description	Linia komórkowa C4-2 jest niezależnym od androgenów modelem ludzkiego raka prostaty pochodzącym z macierzystej linii komórkowej LNCaP. Powstała ona w wyniku stopniowego procesu selekcji in vivo obejmującego jednoczesne wstrzykiwanie komórek LNCaP z ludzkimi komórkami zrębu kości (komórkami MS) wykastrowanym myszom z niedoborem odporności, co doprowadziło do pojawienia się guzów niewrażliwych na androgeny. Podlinia C4-2 została wyprowadzona z wariantu C4 po dalszym pasażowaniu w wykastrowanych gospodarzach i zachowuje zdolność do wzrostu i tworzenia guzów w warunkach pozbawionych androgenów bez potrzeby wsparcia zrębu. Komórki C4-2 utrzymują produkcję antygenu specyficznego dla prostaty (PSA) i ekspresję receptora androgenowego (AR), w tym charakterystyczną mutację punktową T877A AR odziedziczoną po LNCaP, ale wykazują zmniejszoną wrażliwość na androgeny w porównaniu z linią rodzicielską. Podczas gdy komórki LNCaP wymagają androgenów do wzrostu, komórki C4-2 proliferują w środowiskach pozbawionych androgenów i nadal wyrażają PSA i geny regulowane przez AR, co czyni je solidnym modelem raka prostaty opornego na kastrację (CRPC). In vitro, komórki C4-2 rosną szybciej niż LNCaP w standardowych warunkach hodowlanych, a także wykazują lepszą aktywność nowotworową in vivo. Po wstrzyknięciu podskórnym myszom z obniżoną odpornością, komórki C4-2 łatwo tworzą guzy, co kontrastuje z wolniejszym lub mniej spójnym potencjałem nowotworowym komórek LNCaP. Model C4-2 był szeroko stosowany do badania mechanizmów oporności na terapię pozbawienia androgenów (ADT), roli wewnątrzwydzielniczego metabolizmu androgenów oraz szlaków molekularnych leżących u podstaw progresji CRPC. Zachowuje ekspresję antygenu błonowego specyficznego dla prostaty (PSMA), choć na niższych poziomach niż LNCaP, i wykazuje unikalne odpowiedzi na stymulację androgenową i terapie antyandrogenowe. Te cechy sprawiają, że C4-2 jest kluczowym modelem do oceny nowych terapii ukierunkowanych na zaawansowanego raka prostaty.
Organism	Człowiek
Tissue	Przerzuty
Disease	Rak gruczołu krokowego
Synonyms	LNCaP-C4-2, LNCaP podlinia C4-2, C4-2, C42, Sp 2817

Charakterystyka

Age	50 lat
Gender	Mężczyzna
Ethnicity	Kaukaski
Morphology	Podobny do nabłonka

Komórki C4-2 | 305752

Growth properties	Adherent

Dane regulacyjne

Citation	C4-2 (numer katalogowy Cytion 305752)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_4782

Dane biomolekularne

Mutational profile	Mutacja: AR, Simple, p.Thr878Ala (c.2632A>G), Hemizygotyczna. Mutacja, MEN1, Simple, p.Tyr318Ter (c.954T>G) (p.Tyr313Ter, c.939T>A), Heterozygotyczna (z macierzystej linii komórkowej).Mutacja, PIK3R1, Simple, p.Arg639Ter (c.1915C>T), heterozygotyczna (z macierzystej linii komórkowej).Mutacja, PTEN, Simple, p.Lys6Argfs*4 (c.17_18delAA), nieokreślona (z macierzystej linii komórkowej).

Obsługa

Culture Medium	DMEM:Hams F12 (4:1)
Supplements	Uzupełnić pożywkę 10% roztworem FBS w HIA
Seeding density	2–3 x 10^4 komórek/cm2
Fluid renewal	2 do 3 razy w tygodniu
Freeze medium	Jako pożywki do kriokonserwacji używamy kompletnej pożywki wzrostowej (w tym FBS) + 10% DMSO w celu zapewnienia odpowiedniej żywotności po rozmrożeniu lub CM-1 (numer katalogowy Cytion 800100), która zawiera zoptymalizowane osmoprotektanty i stabilizatory metaboliczne w celu zwiększenia regeneracji i zmniejszenia stresu wywołanego kriokonserwacją.

Komórki C4-2 | 305752

Thawing and Culturing Cells

1. Upewnij się, że fiolka pozostaje głęboko zamrożona w momencie dostawy, ponieważ komórki są wysyłane w suchym lodzie, aby utrzymać optymalną temperaturę podczas transportu.

2. Po otrzymaniu należy natychmiast przechowywać fiolkę w temperaturze poniżej -150°C, aby zapewnić zachowanie integralności komórek, lub przejść do kroku 3, jeśli wymagana jest natychmiastowa hodowla.

3. W przypadku natychmiastowej hodowli należy szybko rozmrozić fiolkę, zanurzając ją w łaźni wodnej o temperaturze 37°C z czystą wodą i środkiem przeciwdrobnoustrojowym, delikatnie mieszając przez 40-60 sekund, aż pozostanie niewielka grudka lodu.

4. Wykonaj wszystkie kolejne kroki w sterylnych warunkach w kapturze przepływowym, dezynfekując fiolkę 70% etanolem przed otwarciem.

5. Ostrożnie otworzyć zdezynfekowaną fiolkę i przenieść zawiesinę komórek do 15 ml probówki wirówkowej zawierającej 8 ml podłoża hodowlanego o temperaturze pokojowej, delikatnie mieszając.

6. Wirować mieszaninę z prędkością 300 x g przez 3 minuty w celu oddzielenia komórek i ostrożnie odrzucić supernatant zawierający pozostałości pożywki do zamrażania.

7. Delikatnie ponownie zawiesić osad komórek w 10 ml świeżego podłoża hodowlanego. W przypadku komórek przylegających, rozdzielić zawiesinę pomiędzy dwie kolby hodowlane T25; w przypadku hodowli zawiesinowych, przenieść całą pożywkę do jednej kolby T25 w celu promowania skutecznej interakcji i wzrostu komórek.

8. Przestrzegaj ustalonych protokołów podhodowli w celu ciągłego wzrostu i utrzymania linii komórkowej, zapewniając wiarygodne wyniki eksperymentów.

Incubation Atmosphere	37°C, 5% $_{CO2}$, nawilżona atmosfera.
Flask Coating	Brak
Shipping Conditions	Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Storage Conditions	W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiolki w ciekłym azocie w fazie lotnej w temperaturze od -150 do -196 °C. Przechowywanie w temperaturze -80 °C jest dopuszczalne tylko jako krótki etap przejściowy przed przeniesieniem do ciekłego azotu.

Kontrola jakości i analiza molekularna

Sterility	Zanieczyszczenie mykoplazmą jest wykluczane przy użyciu zarówno testów opartych na PCR, jak i metod wykrywania mykoplazmy opartych na luminescencji. Aby upewnić się, że nie ma zanieczyszczenia bakteriami, grzybami lub drożdżami, hodowle komórkowe są poddawane codziennym kontrolom wizualnym.