

Клетки RWPE-1 | 305217

Обща информация

Description

Клетъчната линия RWPE-1, получена от епител на простатата на 54-годишен мъж от бялата раса без данни за рак на простатата, е ценен ресурс в биомедицинските изследвания, особено за проучвания на биологията и рака на простатата. Тези епителни клетки, характеризиращи се със свойствата си за растеж на прилепване и типична епителна морфология, са имортализирани с помощта на репликационнодефицитен ретровирус, който носи гена E7 от човешки папиломавирус 18 (HPV-18), който инактивира протеина ретинобластома и подпомага клетъчната имортализация.

Клетките RWPE-1, произхождащи от нормална човешка простата, се използват в изследванията на рака на простатата, въпреки че тяхната експресия на андрогенни рецептори е сравнително скромна, особено в сравнение с туморогенните клетъчни линии, получени от рак на простатата. Епителната клетъчна линия RWPE-1 експресира цитокератини 8 и 18, които потвърждават епителната ѝ линия. Въпреки че клетките RWPE-1 експресират туморни супресори като p53 и pRB, което отразява тяхната нетуморогенна природа, експресията на специфични за простатата маркери като Kallikrein 3 (KLK3) или PSA обикновено е ниска или липсва при стандартни условия на култивиране.

В 3D култури, като тези, образувани в Matrigel, човешките клетки RWPE-1 могат да се организират в ацинарни структури, напомнящи нормалната архитектура на простатата. Когато става въпрос за секреция на PSA (простатноспецифичен антиген) в отговор на андрогенна стимулация, клетките RWPE-1 показват по-слабо изразена реакция в сравнение с клетъчните линии на рак на простатата. Следователно, докато клетките RWPE-1 предлагат ценен модел за разбиране на основните свойства на нормалните епителни клетки на простатата.

Нетуморогенният характер на RWPE-1 служи като модел за изучаване на прехода към туморогенна трансформация и динамиката на раковите клетки, включително метастатичните клетки на рака на простатата и карциногенезата на простатата. Включването на фактори като EGF и растежен хормон в условията на култивиране може да допринесе за по-нататъшно изясняване на пътищата, свързани с хиперплазията на простатата и прогресията към рак на простатата. В обобщение, клетките RWPE-1 улесняват цялостното разбиране на рака на простатата, от иницирането му в простатни клетъчни линии до проявата му при пациенти с рак на простатата.

Organism Човек

Tissue Простата

Synonyms RWPE1

Характеристики

Age 54 години

Gender Мъжки

Ethnicity Кавказки

Клетки RWPE-1 | 305217**Morphology** Епителиален**Cell type** Епителна клетка на простатата**Growth properties** Придържачи се**Регулаторни данни****Citation** RWPE-1 (каталожен номер 305217 на Cytion)**Biosafety level** RWPE-1 се класифицира като ниво на биологична безопасност 1 или 2 (BSL-1/2) в Германия, в зависимост от вида на извършваната работа. Клетъчната линия произхожда от човешки епителни клетки на простатата, трансфектирани с едно копие на HPV-18, и е отрицателна за хепатит В, хепатит С и HIV. Освобождаването на вирусни частици е малко вероятно, тъй като HPV-18 изисква диференцирани епителни клетки за репликация, а единичното копие на генома обикновено не води до образуване на частици. Такова освобождаване е теоретично възможно само в 3D култури (напр. органотипни култури или култури на салове), но е изключено в еднослойни култури. Поради наличието на пълния геном на HPV-18, RWPE-1 е категоризиран като организъм от рискова група 2 за целите на генното инженерство.**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_3791**Биомолекуларни данни****Karyotype** Клетките RWPE-1 имат диплоидна хромозомна плоидност и показват хромозомни вариации като 45, X,-Y и 51, XY.**Работа с****Culture Medium** K-SFM (Ние не доставяме този продукт; моля, помислете за други доставчици. Моля, уведомете ни, ако се нуждаете от допълнително съдействие)**Supplements** Допълнете средата с 0,05 mg/ml BPE, 5 ng/ml EGF. Средата не трябва да се филтрира изцяло. Добавете BPE и EGF в 10 ml и след стерилно филтриране включете тази смес в средата.**Dissociation Reagent** Accutase

Клетки RWPE-1 | 305217**Subculturing**

Отстранете старата среда от адхезивните клетки и ги промийте с PBS, която не съдържа калций и магнезий. За колби T25 използвайте 3-5 ml PBS, а за колби T75 - 5-10 ml. След това покрийте клетките изцяло с Accutase, като използвате 1-2 ml за колби T25 и 2,5 ml за колби T75. Оставете клетките да се инкубират на стайна температура за 8-10 минути, за да се отделят. След инкубацията внимателно разбъркайте клетките с 10 ml среда, за да ги ресуспендирайте, след което центрофугирайте при 300xg за 3 минути. Изхвърлете супернатантата, ресуспендирайте клетките в прясна среда и ги прехвърлете в нови колби, които вече съдържат прясна среда.

Freeze medium

Като среда за криоконсервация използваме пълна среда за растеж (включително FBS) + 10% DMSO за адекватна жизнеспособност след размразяване или CM-1 (каталожен номер 800100 на Cytion), която включва оптимизирани осмопротектори и метаболитни стабилизатори за подобряване на възстановяването и намаляване на криоиндуцирания стрес.

Thawing and Culturing Cells

1. Уверете се, че флаконът остава дълбоко замразен при доставката, тъй като клетките се транспортират със сух лед, за да се поддържат оптимални температури по време на транспортирането.
2. При получаване или съхранявайте незабавно криовиолата при температури под $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, за да осигурите запазване на клетъчната цялост, или преминете към стъпка 3, ако е необходимо незабавно култивиране.
3. За незабавно култивиране бързо размразете флакона, като го потопите във водна баня с чиста вода и антимикуробен агент с температура $37\text{ }^{\circ}\text{C}$, като разбърквате внимателно в продължение на 40-60 секунди, докато остане малка ледена бучка.
4. Извършвайте всички следващи стъпки при стерилни условия в аспиратор, като преди отваряне дезинфекцирате криовиолата със 70% етанол.
5. Внимателно отворете дезинфекцирания флакон и прехвърлете клетъчната суспензия в 15 ml центрофужна епруветка, съдържаща 8 ml хранителна среда със стайна температура, като разбърквате внимателно.
6. Центрофугирайте сместа при 300 x g в продължение на 3 минути, за да отделите клетките, и внимателно изхвърлете супернатантата, съдържаща остатъчна замразяваща среда.
7. Внимателно ресуспендирайте клетъчната пелета в 10 ml прясна хранителна среда. За адхезивни клетки разделете суспензията между две колби T25; за суспензионни култури прехвърлете цялата среда в една колба T25, за да стимулирате ефективното взаимодействие и растеж на клетките.
8. Придържайте се към установените протоколи за субкултивиране за непрекъснат растеж и поддържане на клетъчната линия, като гарантирате надеждни експериментални резултати.

Клетки RWPE-1 | 305217

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO₂, овлажнена атмосфера.

Flask Coating

За оптимално прикрепване и жизнеспособност след размразяване препоръчваме да се използват **колби или плаки с колагеново покритие**.

Freezing Procedure

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително -78 °C по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

Shipping Conditions

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително -78 °C по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

Storage Conditions

За дълготрайно съхранение поставете флаконите в течен азот в парна фаза при температура около -150 до -196 °C. Съхранението при -80 °C е приемливо само като кратък междинен етап преди прехвърлянето в течен азот.

Контрол на качеството / Генетичен профил / HLA

Sterility

Замърсяването с микоплазма се изключва както чрез PCR-базирани анализи, така и чрез луминесцентни методи за откриване на микоплазма.

За да се гарантира, че няма бактериално, гъбично или дрождево замърсяване, клетъчните култури се подлагат на ежедневни визуални проверки.