Product sheet

Buňky RWPE-1 | 305217

Obecné informace

Description	Buněčná linie RWPE-1, odvozená z epitelu prostaty 54letého muže kavkazské rasy bez známek rakoviny prostaty, je cenným zdrojem pro biomedicínský výzkum, zejména pro studie biologie a rakoviny prostaty. Tyto epitelové buňky, které se vyznačují adherenčními růstovými vlastnostmi a typickou epitelovou morfologií, byly imortalizovány pomocí retroviru s deficitem replikace, který nese gen E7 z lidského papilomaviru 18 (HPV-18), jenž inaktivuje retinoblastomový protein a podporuje buněčnou imortalizaci. Buňky RWPE-1, pocházející z normální lidské prostaty, se využívají ve výzkumu rakoviny prostaty, ačkoli jejich exprese androgenních receptorů je relativně nízká, zejména ve srovnání s nádorovými buněčnými liniemi odvozenými od rakoviny prostaty. Epiteliální buněčná linie RWPE-1 exprimuje cytokeratiny 8 a 18, které potvrzují její epiteliální linii. Zatímco buňky RWPE-1 exprimují nádorové supresory, jako jsou p53 a pRB, což odráží jejich nenádorovou povahu, exprese prostatických specifických markerů, jako je kallikrein 3 (KLK3) nebo PSA, je za standardních kultivačních podmínek obecně nízká nebo chybí. Ve 3D kulturách, jako jsou ty vytvořené v Matrigelu, se lidské buňky RWPE-1 mohou uspořádat do acinárních struktur připomínajících normální architekturu prostaty. Pokud jde o sekreci PSA (prostatického specifického antigenu) v reakci na stimulaci androgeny, buňky RWPE-1 vykazují méně výraznou reakci ve srovnání s buněčnými liniemi karcinomu prostaty. Zatímco tedy buňky RWPE-1 nabízejí cenný model pro pochopení základních vlastností normálních epiteliálních buněk prostaty. Netumorigenní povaha buněk RWPE-1 slouží jako model pro studium přechodu k tumorigenní transformaci a dynamiky nádorových buněk, včetně metastatických buněk karcinomu prostaty a karcinogeneze prostaty. Zahrnutí faktorů, jako je EGF a růstový hormon, do kultivačních podmínek může dále objasnit cesty, které se podílejí na hyperplazii prostaty a progresi směrem k rakovině prostaty. Souhrnně lze říci, že buňky RWPE-1 usnadňují komplexní pochopení rakoviny prostaty, od jejího vzniku v buněčných liniích prostaty až po její projevy u pacientů s rakovinou prostaty.
Organism	Člověk
Tissue	Prostata
Synonyms	RWPE1

Charakteristika

Age	54 let
Gender	Muži
Ethnicity	Kavkazský
Morphology	Epitelové
Cell type	Epitelová buňka prostaty

Buňky RWPE-1 | 305217

Growth properties	Adherentní

Regulační údaje

Citation	RWPE-1 (katalogové číslo Cytion 305217)
Biosafety level	RWPE-1 je v Německu klasifikován jako stupeň biologické bezpečnosti 1 nebo 2 (BSL-1/2) v závislosti na typu prováděné práce. Buněčná linie pochází z lidských epiteliálních buněk prostaty transfekovaných jednou kopií HPV-18 a je negativní na hepatitidu B, hepatitidu C a HIV. Uvolnění virových částic je nepravděpodobné, protože HPV-18 vyžaduje k replikaci diferencované epiteliální buňky a jediná kopie genomu obvykle nevede k tvorbě částic. Takové uvolňování je teoreticky možné pouze v 3D kulturách (např. organotypové nebo raftové kultury), ale je vyloučeno v jednovrstvých kulturách. Vzhledem k přítomnosti úplného genomu HPV-18 je RWPE-1 pro účely genového inženýrství zařazen do rizikové skupiny 2.
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_3791

Biomolekulární data

Karyotype	Buňky RWPE-1 mají diploidní chromozomální ploidii a vykazují chromozomální variace, například 45, X,-Y a 51, XY.

Zpracování

Culture Medium	K-SFM (Tento produkt nedodáváme; zvažte prosím jiné dodavatele. Pokud potřebujete další pomoc, dejte nám prosím vědět)
Supplements	Doplňte médium o 0,05 mg/ml BPE, 5 ng/ml EGF. Médium by nemělo být zcela filtrováno. Přidejte BPE a EGF do 10 ml a po sterilní filtraci tuto směs vmíchejte do média.
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Odstraňte staré médium z adherovaných buněk a promyjte je PBS bez vápníku a hořčíku. Pro baňky T25 použijte 3-5 ml PBS a pro baňky T75 5-10 ml. Poté buňky zcela zakryjte přípravkem Accutase, přičemž použijte 1-2 ml pro baňky T25 a 2,5 ml pro baňky T75. Nechte buňky inkubovat při pokojové teplotě po dobu 8-10 minut, aby se oddělily. Po inkubaci jemně promíchejte buňky s 10 ml média, aby byly znovu suspendovány, a poté je odstřeďte při 300xg po dobu 3 minut. Supernatant vyhoďte, buňky znovu rozpusťte v čerstvém médiu a přeneste je do nových baněk, které již obsahují čerstvé médium.

Buňky RWPE-1 | 305217

Freeze medium	Jako kryokonzervační médium používáme kompletní růstové médium (včetně FBS) + 10 % DMSO pro zajištění dostatečné životaschopnosti po rozmrazení nebo CM-1 (katalogové číslo 800100 společnosti Cytion), které obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory pro zlepšení regenerace a snížení stresu způsobeného kryo.

Thawing and Culturing Cells

1. Ověřte si, že lahvička zůstane při dodání hluboce zmražená, protože buňky se přepravují na suchém ledu, aby se během přepravy udržely optimální teploty.
2. Po obdržení kryovialku buď okamžitě uložte při teplotě nižší než -150 °C, abyste zajistili zachování buněčné integrity, nebo přejděte ke kroku 3, pokud je nutná okamžitá kultivace.
3. Pro okamžitou kultivaci rychle rozmrazte lahvičku ponořením do vodní lázně o teplotě 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálním prostředkem a jemně ji míchejte po dobu 40-60 sekund, dokud nezůstane malý ledový chuchvalec.
4. Všechny další kroky provádějte za sterilních podmínek v průtokové digestoři a před otevřením kryovialku dezinfikujte 70% ethanolem.
5. Opatrně otevřete dezinfikovanou lahvičku a přeneste buněčnou suspenzi do 15 ml centrifugační zkumavky obsahující 8 ml kultivačního média o pokojové teplotě a jemně promíchejte.
6. Směs odstřeďujte při 300 x g po dobu 3 minut, aby se buňky oddělily, a supernatant obsahující zbytky mrazicího média opatrně zlikvidujte.
7. Pelety buněk jemně resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačního média. U adherentních buněk rozdělte suspenzi mezi dvě kultivační baňky T25; u suspenzních kultur přeneste veškeré médium do jedné baňky T25, abyste podpořili účinnou interakci a růst buněk.
8. Dodržujte zavedené subkultivační protokoly pro kontinuální růst a udržování buněčné linie, čímž zajistíte spolehlivé výsledky experimentů.

Incubation Atmosphere	37 °C, 5 % $_{CO2}$, zvlhčená atmosféra.
Flask Coating	Žádný
Freezing Procedure	Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

Buňky RWPE-1 | 305217

Shipping Conditions	Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.
Storage Conditions	Pro dlouhodobé uchování umístěte lahvičky do kapalného dusíku v plynné fázi při teplotě přibližně -150 až -196 °C. Skladování při -80 °C je přijatelné pouze jako krátký přechodný krok před přemístěním do kapalného dusíku.

Kontrola kvality a molekulární analýza

Sterility	Kontaminace mykoplazmaty je vyloučena jak pomocí testů založených na PCR, tak pomocí luminiscenčních metod detekce mykoplazmy. Aby se zajistilo, že nedojde ke kontaminaci bakteriemi, plísněmi nebo kvasinkami, jsou buněčné kultury denně podrobovány vizuálním kontrolám.
Profil STR	**Amelogenin**: x,y **CSF1PO**: 13 **D13S317**: 8,14 **D16S539**: 9,11 **D5S818**: 12,15 **D7S820**: 10,11 **TH01**: 8,9.3 **TPOX**: 8,11 **vWA**: 14,18 **D3S1358**: 15,16 **D21S11**: 29,31 **D18S51**: 14,16 **Penta E**: 5,12 **Penta D**: 10,13 **D8S1179**: 10,14 **FGA**: 24,25