

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 adhezenčními růstovými vlastnostmi a typickou epitelovou morfológií, 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 epitheliální 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 epitheliálních 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 epitelálních 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 epitelální 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 Doplněte 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 odstředte při 300xg po dobu 3 minut. Supernatant vyhodte, buňky znovu rozpustte 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 zmrazená, 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 zkušavky obsahující 8 ml kultivačního média o pokojové teplotě a jemně promíchejte.
6. Směs odstředíte 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 % CO_2 , 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 / Genetický profil / HLA

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 vizuální 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