Product sheet

RWPE-1-celler | 305217

Generel information

Description	RWPE-1-cellelinjen, der stammer fra prostataepitelet hos en 54-årig kaukasisk mand uden tegn på prostatakræft, er en værdifuld ressource i biomedicinsk forskning, især til undersøgelser af prostatabiologi og -kræft. Disse epitelceller, der er kendetegnet ved deres adhærente vækstegenskaber og typiske epitelmorfologi, blev udødeliggjort ved hjælp af et replikationsdeficient retrovirus, der bærer E7-genet fra human papillomavirus 18 (HPV-18), som inaktiverer retinoblastomproteinet og fremmer cellulær udødeliggørelse. RWPE-1-celler, der stammer fra en normal menneskelig prostata, bruges i forskning i prostatakræft, selv om deres androgenreceptorudtryk er relativt beskedent, især når man sammenligner med tumorigeniske cellelinjer, der stammer fra prostatakræft. Den epiteliale cellelinje RWPE-1 udtrykker cytokeratiner 8 og 18, som bekræfter deres epiteliale afstamning. Mens RWPE-1-celler udtrykker tumorundertrykkere som p53 og pRB, hvilket afspejler deres ikke-tumorigeniske natur, er udtrykket af prostataspecifikke markører som Kallikrein 3 (KLK3) eller PSA generelt lavt eller fraværende under standardkulturbetingelser. I 3D-kulturer, som dem der dannes i Matrigel, kan menneskeceller RWPE-1 organisere sig i acinære strukturer, der minder om normal prostata-arkitektur. Når det gælder udskillelsen af PSA (prostataspecifikt antigen) som reaktion på androgenstimulering, viser RWPE-1-celler en mindre udtalt reaktion sammenlignet med cellelinjer fra prostatakræft. Derfor er RWPE-1-celler en værdifuld model til at forstå normale prostataepitelcellers grundlæggende egenskaber. RWPE-1's ikke-tumorigeniske natur fungerer som en model til at studere overgangen til tumorigenisk transformation og dynamikken i kræftceller, herunder metastatiske prostatacancerceller og prostatakarcinogenese. Inddragelse af faktorer som EGF og væksthormon i dyrkningsbetingelserne kan yderligere belyse de veje, der er involveret i prostatahyperplasi og udviklingen mod prostatakræft. Sammenfattende kan man sige, at RWPE-1-celler fremmer en omfattende forståelse af prostatakræft, lige fra dens opståen i prostatacellelinjer til dens manifestation hos prostatakræftpatienter.
Organism	Menneske
Tissue	Prostata
Synonyms	RWPE1

Karakteristika

Age	54 år
Gender	Mand
Ethnicity	Kaukasisk
Morphology	Epitelial
Cell type	Epitelcelle i prostata

RWPE-1-celler | 305217

Growth properties	Vedhæftende

Regulatoriske data

Citation	RWPE-1 (Cytion katalognummer 305217)
Biosafety level	RWPE-1 er klassificeret som Biosafety Level 1 eller 2 (BSL-1/2) i Tyskland, afhængigt af den type arbejde, der udføres. Cellelinjen stammer fra humane prostataepitelceller, der er transfekteret med en enkelt kopi af HPV-18, og er negativ for hepatitis B, hepatitis C og hiv. Viral partikelfrigivelse er usandsynlig, da HPV-18 kræver differentierede epitelceller til replikation, og en enkelt genomkopi fører typisk ikke til partikeldannelse. En sådan frigivelse er kun teoretisk mulig i 3D-kulturer (f.eks. organotypiske kulturer eller raft-kulturer), men er udelukket i monolayer-kulturer. På grund af tilstedeværelsen af det fulde HPV-18-genom er RWPE-1 kategoriseret som en risikogruppe 2-organisme til genteknologiske formål.
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_3791

Biomolekylære data

Karyotype	RWPE-1-celler har en diploid kromosomal ploidi og viser kromosomale variationer som 45, X,-Y og 51, XY.

Håndtering

Culture Medium	K-SFM (Vi leverer ikke dette produkt; overvej venligst andre leverandører. Lad os vide, hvis du har brug for yderligere hjælp)
Supplements	Suppler mediet med 0,05 mg/mL BPE, 5 ng/mL EGF. Mediet skal ikke filtreres helt. Tilsæt BPE og EGF til 10 mL, og indarbejd denne blanding i mediet efter steril filtrering.
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Fjern det gamle medium fra de klæbende celler, og vask dem med PBS, der ikke indeholder calcium og magnesium. Brug 3-5 ml PBS til T25-kolber og 5-10 ml til T75-kolber. Dæk derefter cellerne helt med Accutase, brug 1-2 ml til T25-kolber og 2,5 ml til T75-kolber. Lad cellerne inkubere ved stuetemperatur i 8-10 minutter for at løsne dem. Efter inkubationen blandes cellerne forsigtigt med 10 ml medium for at resuspendere dem, og centrifugeres derefter ved 300xg i 3 minutter. Kassér supernatanten, resuspender cellerne i frisk medium, og overfør dem til nye kolber, der allerede indeholder frisk medium.

RWPE-1-celler | 305217

Freeze medium	Som kryopræserveringsmedium bruger vi komplet vækstmedium (inklusive FBS) + 10 % DMSO for tilstrækkelig levedygtighed efter optøning eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som indeholder optimerede osmobeskyttende stoffer og metaboliske stabilisatorer for at forbedre genopretningen og reducere kryo-induceret stress.

Thawing and Culturing Cells

1. Bekræft, at hætteglasset forbliver dybfrosset ved levering, da cellerne sendes på tøris for at opretholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved modtagelsen skal du enten straks opbevare kryohætteglasset ved temperaturer under -150 °C for at sikre, at cellernes integritet bevares, eller gå videre til trin 3, hvis øjeblikkelig dyrkning er påkrævet.
3. Ved øjeblikkelig dyrkning optøs hætteglasset hurtigt ved at nedsænke det i et 37 °C varmt vandbad med rent vand og et antimikrobielt middel og røre forsigtigt i 40-60 sekunder, indtil der kun er en lille isklump tilbage.
4. Udfør alle efterfølgende trin under sterile forhold i en flowhætte, og desinficer kryovialet med 70 % ethanol, før det åbnes.
5. Åbn forsigtigt det desinficerede hætteglas, og overfør cellesuspensionen til et 15 ml centrifugerør, der indeholder 8 ml kulturmedium ved stuetemperatur, og bland forsigtigt.
6. Centrifuger blandingen ved 300 x g i 3 minutter for at adskille cellerne, og kassér omhyggeligt supernatanten, der indeholder resterende frysemedium.
7. Resuspender forsigtigt cellepelleten i 10 ml frisk dyrkningsmedium. For klæbende celler deles suspensionen mellem to T25-kulturkolber; for suspensionskulturer overføres alt mediet til en T25-kolbe for at fremme effektiv celleinteraktion og -vækst.
8. Overhold etablerede subkulturprotokoller for fortsat vækst og vedligeholdelse af cellelinjen, hvilket sikrer pålidelige eksperimentelle resultater.

Incubation Atmosphere	37°C, 5%$_{CO2}$, befugtet atmosfære.
Flask Coating	Ingen
Freezing Procedure	Kryopræserverede cellelinjer sendes på tøris i valideret, isoleret emballage med tilstrækkeligt kølemiddel til at opretholde ca. -78 °C under hele transporten. Ved modtagelse skal beholderen straks inspiceres, og hætteglassene skal straks overføres til passende opbevaring.

Shipping Conditions	Kryopræserverede cellelinjer sendes på tøris i valideret, isoleret emballage med tilstrækkeligt kølemiddel til at opretholde ca. -78 °C under hele transporten. Ved modtagelse skal beholderen straks inspiceres, og hætteglassene skal straks overføres til passende opbevaring.
Storage Conditions	For langtidsopbevaring anbringes hætteglas i flydende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Opbevaring ved -80 °C er kun acceptabelt som et kort mellemtrin før overførsel til flydende nitrogen.

Kvalitetskontrol og molekylær analyse

Sterility	Mycoplasma-kontaminering udelukkes ved hjælp af både PCR-baserede assays og luminescensbaserede mycoplasma-detektionsmetoder. For at sikre, at der ikke er nogen bakterie-, svampe- eller gærforurening, underkastes cellekulturerne daglige visuelle inspektioner.
STR-profil	**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