Product sheet

RWPE-1-Zellen | 305217

Allgemeine Informationen

Description	Die RWPE-1-Zelllinie, die aus dem Prostataepithel eines 54-jährigen kaukasischen Mannes ohne Anzeichen von Prostatakrebs stammt, ist eine wertvolle Ressource für die biomedizinische Forschung, insbesondere für Studien zur Biologie der Prostata und zu Krebs. Diese Epithelzellen, die sich durch ihre adhärenten Wachstumseigenschaften und ihre typische epitheliale Morphologie auszeichnen, wurden mit einem replikationsdefizienten Retrovirus immortalisiert, das das E7-Gen des humanen Papillomavirus 18 (HPV-18) trägt, welches das Retinoblastom-Protein inaktiviert und die zelluläre Immortalisierung fördert. RWPE-1-Zellen, die aus einer normalen menschlichen Prostata stammen, werden in der Prostatakrebsforschung verwendet, obwohl ihre Androgenrezeptorexpression relativ bescheiden ist, insbesondere im Vergleich zu Zelllinien, die aus tumorigenem Prostatakrebs stammen. Die epitheliale Zelllinie RWPE-1 exprimiert die Cytokeratine 8 und 18, was ihre epitheliale Abstammung bestätigt. Während RWPE-1-Zellen Tumorsuppressoren wie p53 und pRB exprimieren, was ihre nicht-tumorigene Natur widerspiegelt, ist die Expression prostataspezifischer Marker wie Kallikrein 3 (KLK3) oder PSA unter Standardkulturbedingungen im Allgemeinen gering oder nicht vorhanden. In 3D-Kulturen, wie sie in Matrigel gebildet werden, können sich menschliche Zellen RWPE-1 zu azinären Strukturen organisieren, die an die normale Architektur der Prostata erinnern. Wenn es um die Sekretion von PSA (Prostata-spezifisches Antigen) als Reaktion auf Androgenstimulation geht, zeigen RWPE-1-Zellen im Vergleich zu Prostatakrebszelllinien eine weniger ausgeprägte Reaktion. RWPE-1-Zellen sind daher ein wertvolles Modell für das Verständnis der grundlegenden Eigenschaften normaler Prostataepithelzellen. Die nicht-tumorigene Natur von RWPE-1 dient als Modell für die Untersuchung des Übergangs zur tumorigenen Transformation und der Dynamik von Krebszellen, einschließlich metastasierender Prostatakrebszellen und der Prostatakarzinogenese. Die Einbeziehung von Faktoren wie EGF und Wachstumshormon in die Kulturbedingungen kann die an der Prostatahyperplasie und dem Fortschreiten in Richtung Prostatakrebs beteiligten Stoffwechselwege weiter aufklären. Zusammenfassend lässt sich sagen, dass RWPE-1-Zellen ein umfassendes Verständnis von Prostatakrebs ermöglichen, von seiner Entstehung in Prostatazelllinien bis hin zu seiner Manifestation bei Prostatakrebspatienten.
Organism	Menschen
Tissue	Prostata
Synonyms	RWPE1

Merkmale

Age	54 Jahre
Gender	Männlich
Ethnicity	Kaukasisch

RWPE-1-Zellen | 305217

Morphology	Epithelial
Cell type	Epithelzelle der Prostata
Growth properties	Adhärent

Regulatorische Daten

Citation	RWPE-1 (Cytion-Katalognummer 305217)
Biosafety level	RWPE-1 ist in Deutschland je nach Art der durchgeführten Arbeiten als Biosicherheitsstufe 1 oder 2 (BSL-1/2) eingestuft. Die Zelllinie stammt von menschlichen Prostataepithelzellen, die mit einer einzigen Kopie von HPV-18 transfiziert wurden, und ist negativ für Hepatitis B, Hepatitis C und HIV. Die Freisetzung von Viruspartikeln ist unwahrscheinlich, da HPV-18 zur Replikation differenzierte Epithelzellen benötigt und eine einzelne Genomkopie normalerweise nicht zur Partikelbildung führt. Eine solche Freisetzung ist nur theoretisch in 3D-Kulturen (z. B. organotypischen oder Floßkulturen) möglich, in Monolayerkulturen ist sie jedoch ausgeschlossen. Aufgrund des Vorhandenseins des vollständigen HPV-18-Genoms wird RWPE-1 für gentechnische Zwecke als Organismus der Risikogruppe 2 eingestuft.
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_3791

Biomolekulare Daten

Karyotype	RWPE-1-Zellen haben eine diploide Chromosomenploidie und zeigen Chromosomenvariationen wie 45, X,-Y und 51, XY.

Handhabung

Culture Medium	K-SFM (Wir liefern dieses Produkt nicht; bitte beachten Sie andere Anbieter. Bitte lassen Sie uns wissen, wenn Sie weitere Unterstützung benötigen)
Supplements	Ergänzen Sie das Medium mit 0,05 mg/ml BPE, 5 ng/ml EGF. Das Medium sollte nicht vollständig filtriert werden. Geben Sie BPE und EGF zu 10 ml hinzu und mischen Sie diese Mischung nach steriler Filtration mit dem Medium.
Dissociation Reagent	Accutase

RWPE-1-Zellen | 305217

Subculturing	Entfernen Sie das alte Medium von den adhärenten Zellen und waschen Sie sie mit PBS, das kein Kalzium und Magnesium enthält. Für T25-Kolben 3-5 ml PBS und für T75-Kolben 5-10 ml verwenden. Anschließend werden die Zellen vollständig mit Accutase bedeckt, wobei 1-2 ml für T25-Kolben und 2,5 ml für T75-Kolben verwendet werden. Lassen Sie die Zellen 8-10 Minuten bei Raumtemperatur inkubieren, um sie abzulösen. Nach der Inkubation mischen Sie die Zellen vorsichtig mit 10 ml Medium, um sie zu resuspendieren, und zentrifugieren sie dann 3 Minuten lang bei 300xg. Den Überstand verwerfen, die Zellen in frischem Medium resuspendieren und in neue Kolben überführen, die bereits frisches Medium enthalten.
Freeze medium	Als Kryokonservierungsmedium verwenden wir komplettes Wachstumsmedium (einschließlich FBS) + 10 % DMSO für eine angemessene Lebensfähigkeit nach dem Auftauen oder CM-1 (Cytion Katalognummer 800100), das optimierte Osmoprotektoren und Stoffwechselstabilisatoren enthält, um die Erholung zu verbessern und kryoinduzierten Stress zu reduzieren.

Thawing and Culturing Cells

1. Vergewissern Sie sich, dass das Fläschchen bei der Lieferung tiefgefroren ist, da die Zellen auf Trockeneis versandt werden, um während des Transports optimale Temperaturen zu erhalten.
2. Lagern Sie das Kryofläschchen nach Erhalt entweder sofort bei Temperaturen unter -150 °C, um die Unversehrtheit der Zellen zu gewährleisten, oder fahren Sie mit Schritt 3 fort, wenn eine sofortige Kultivierung erforderlich ist.
3. Für eine sofortige Kultivierung tauen Sie das Fläschchen schnell auf, indem Sie es in ein 37°C warmes Wasserbad mit sauberem Wasser und einem antimikrobiellen Mittel eintauchen und 40-60 Sekunden lang vorsichtig schütteln, bis ein kleiner Eisklumpen zurückbleibt.
4. Führen Sie alle weiteren Schritte unter sterilen Bedingungen in einer Abzugshaube durch und desinfizieren Sie das Kryo-Fläschchen vor dem Öffnen mit 70%igem Ethanol.
5. Das desinfizierte Fläschchen vorsichtig öffnen und die Zellsuspension unter vorsichtigem Mischen in ein 15-ml-Zentrifugenröhrchen mit 8 ml Kulturmedium bei Raumtemperatur überführen.
6. Zentrifugieren Sie das Gemisch 3 Minuten lang bei 300 x g, um die Zellen abzutrennen, und verwerfen Sie den Überstand mit dem restlichen Gefriermedium vorsichtig.
7. Das Zellpellet vorsichtig in 10 ml frischem Kulturmedium resuspendieren. Bei adhärenten Zellen die Suspension auf zwei T25-Kulturflaschen aufteilen; bei Suspensionskulturen das gesamte Medium in eine T25-Flasche überführen, um eine effektive Zellinteraktion und ein effektives Wachstum zu fördern.
8. Halten Sie sich an die festgelegten Subkulturprotokolle, um ein kontinuierliches Wachstum und die Aufrechterhaltung der Zelllinie zu gewährleisten und zuverlässige Versuchsergebnisse zu erzielen.

Incubation Atmosphere	37°C, 5%$_{CO2}$, befeuchtete Atmosphäre.

Flask Coating	Keine
Freezing Procedure	Kryokonservierte Zelllinien werden auf Trockeneis in einer validierten, isolierten Verpackung mit ausreichend Kühlmittel versandt, um während des gesamten Transports eine Temperatur von etwa -78 °C aufrechtzuerhalten. Prüfen Sie den Behälter bei Erhalt sofort und bringen Sie die Fläschchen unverzüglich in ein geeignetes Lager.
Shipping Conditions	Kryokonservierte Zelllinien werden auf Trockeneis in einer validierten, isolierten Verpackung mit ausreichend Kühlmittel versandt, um während des gesamten Transports eine Temperatur von etwa -78 °C aufrechtzuerhalten. Prüfen Sie den Behälter bei Erhalt sofort und bringen Sie die Fläschchen unverzüglich in ein geeignetes Lager.
Storage Conditions	Zur Langzeitkonservierung werden die Fläschchen in flüssigem Stickstoff bei etwa -150 bis -196 °C gelagert. Eine Lagerung bei -80 °C ist nur als kurzer Zwischenschritt vor der Überführung in flüssigen Stickstoff akzeptabel.

Qualitätskontrolle und molekulare Analyse

Sterility	Eine Kontamination mit Mykoplasmen wird sowohl durch PCR-basierte Assays als auch durch lumineszenzbasierte Mykoplasmen-Nachweisverfahren ausgeschlossen. Um sicherzustellen, dass keine Kontamination mit Bakterien, Pilzen oder Hefen vorliegt, werden die Zellkulturen täglich visuell überprüft.
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