

Κύτταρα RWPE-1 | 305217

Γενικές πληροφορίες

Description

Η κυτταρική σειρά RWPE-1, που προέρχεται από το επιθήλιο του προστάτη ενός 54χρονου Καυκάσιου άνδρα χωρίς ενδείξεις καρκίνου του προστάτη, αποτελεί πολύτιμη πηγή στη βιοϊατρική έρευνα, ιδίως για μελέτες σχετικά με τη βιολογία και τον καρκίνο του προστάτη. Αυτά τα επιθηλιακά κύτταρα, που χαρακτηρίζονται από τις ιδιότητες ανάπτυξης προσκόλλησης και την τυπική επιθηλιακή μορφολογία τους, αθανατίστηκαν με τη χρήση ενός ρετροϊού με ανεπάρκεια αντιγραφής που φέρει το γονίδιο E7 από τον ιό των ανθρώπινων θηλωμάτων 18 (HPV-18), το οποίο αδρανοποιεί την πρωτεΐνη ρετινοβλάστωμα και προάγει την κυτταρική αθανασία.

Τα κύτταρα RWPE-1, που προέρχονται από φυσιολογικό ανθρώπινο προστάτη, χρησιμοποιούνται στην έρευνα για τον καρκίνο του προστάτη, αν και η έκφραση του υποδοχέα ανδρογόνων τους είναι σχετικά μέτρια, ιδίως σε σύγκριση με τις καρκινικές κυτταρικές σειρές που προέρχονται από τον καρκίνο του προστάτη. Η επιθηλιακή κυτταρική σειρά RWPE-1 εκφράζει τις κυτταροκερατίνες 8 και 18, οι οποίες επιβεβαιώνουν την επιθηλιακή τους καταγωγή. Ενώ τα κύτταρα RWPE-1 εκφράζουν κατασταλτικούς παράγοντες του όγκου, όπως οι p53 και pRB, γεγονός που αντανακλά τη μη ογκογόνο φύση τους, η έκφραση ειδικών για τον προστάτη δεικτών, όπως η καλλικρεΐνη 3 (KLK3) ή το PSA, είναι γενικά χαμηλή ή απουσιάζει υπό τυπικές συνθήκες καλλιέργειας.

Σε τριδιάστατες καλλιέργειες, όπως αυτές που σχηματίζονται σε Matrigel, τα ανθρώπινα κύτταρα RWPE-1 μπορούν να οργανωθούν σε δομές ακτινωτών κυττάρων που θυμίζουν τη φυσιολογική αρχιτεκτονική του προστάτη. Όσον αφορά την έκκριση του PSA (Prostate-Specific Antigen) σε απόκριση στη διέγερση με ανδρογόνα, τα κύτταρα RWPE-1 παρουσιάζουν λιγότερο έντονη αντίδραση σε σύγκριση με τις κυτταρικές σειρές καρκίνου του προστάτη. Επομένως, ενώ τα κύτταρα RWPE-1 προσφέρουν ένα πολύτιμο μοντέλο για την κατανόηση των βασικών ιδιοτήτων των φυσιολογικών επιθηλιακών κυττάρων του προστάτη.

Η μη ογκογονική φύση του RWPE-1 χρησιμεύει ως μοντέλο για τη μελέτη της μετάβασης στον ογκογονικό μετασχηματισμό και της δυναμικής των καρκινικών κυττάρων, συμπεριλαμβανομένων των μεταστατικών καρκινικών κυττάρων του προστάτη και της καρκινογένεσης του προστάτη. Η συμπερίληψη παραγόντων όπως ο EGF και η αυξητική ορμόνη στις συνθήκες καλλιέργειας μπορεί να διαφωτίσει περαιτέρω τα μονοπάτια που εμπλέκονται στην υπερπλασία του προστάτη και την εξέλιξη προς τον καρκίνο του προστάτη. Συνοπτικά, τα κύτταρα RWPE-1 διευκολύνουν την ολοκληρωμένη κατανόηση του καρκίνου του προστάτη, από την έναρξή του σε προστατικές κυτταρικές σειρές έως την εκδήλωσή του σε ασθενείς με καρκίνο του προστάτη.

Organism Ανθρώπινο

Tissue Προστάτης

Synonyms RWPE1

Χαρακτηριστικά

Age 54 χρόνια

Gender Άντρας

Ethnicity Καυκάσιος

Κύτταρα RWPE-1 | 305217

Morphology Επιθηλιακό

Cell type Επιθηλιακό κύτταρο του προστάτη

Growth properties Προσκολλημένο

Ρυθμιστικά δεδομένα

Citation RWPE-1 (αριθμός καταλόγου Cytion 305217)

Biosafety level Το RWPE-1 ταξινομείται ως επίπεδο βιοασφάλειας 1 ή 2 (BSL-1/2) στη Γερμανία, ανάλογα με το είδος των εργασιών που διεξάγονται. Η κυτταρική σειρά προέρχεται από ανθρώπινα επιθηλιακά κύτταρα του προστάτη διαμολυσμένα με ένα μόνο αντίγραφο του HPV-18 και είναι αρνητική για ηπατίτιδα Β, ηπατίτιδα C και HIV. Η απελευθέρωση ιικών σωματιδίων είναι απίθανη, καθώς ο HPV-18 απαιτεί διαφοροποιημένα επιθηλιακά κύτταρα για τον πολλαπλασιασμό και ένα μόνο αντίγραφο γονιδιώματος δεν οδηγεί συνήθως σε σχηματισμό σωματιδίων. Μια τέτοια απελευθέρωση είναι μόνο θεωρητικά δυνατή σε τρισδιάστατες καλλιέργειες (π.χ. οργανοτυπικές ή ραφτ καλλιέργειες), αλλά αποκλείεται σε μονοστρωματικές καλλιέργειες. Λόγω της παρουσίας του πλήρους γονιδιώματος του HPV-18, ο RWPE-1 κατηγοριοποιείται ως οργανισμός της ομάδας κινδύνου 2 για σκοπούς γενετικής μηχανικής.

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_3791

Βιομοριακά δεδομένα

Karyotype Τα κύτταρα RWPE-1 έχουν διπλοειδή χρωμοσωμική πλουδία και παρουσιάζουν χρωμοσωμικές παραλλαγές όπως 45, X,-Y και 51, XY.

Χειρισμός

Culture Medium K-SFM (Δεν προμηθεύουμε αυτό το προϊόν, παρακαλούμε εξετάστε άλλους προμηθευτές. Παρακαλούμε ενημερώστε μας αν χρειάζεστε περαιτέρω βοήθεια)

Supplements Συμπληρώστε το μέσο με 0,05 mg/mL BPE, 5 ng/mL EGF. Το μέσο δεν πρέπει να διηθείται πλήρως. Προσθέστε BPE και EGF σε 10 mL και, μετά από αποστειρωμένο φιλτράρισμα, ενσωματώστε το μείγμα αυτό στο μέσο.

Dissociation Reagent Accutase

Κύτταρα RWPE-1 | 305217**Subculturing**

Αφαιρέστε το παλιό μέσο από τα προσκολλημένα κύτταρα και πλύντε τα με PBS που δεν περιέχει ασβέστιο και μαγνήσιο. Για φιάλες T25, χρησιμοποιήστε 3-5 ml PBS και για φιάλες T75, χρησιμοποιήστε 5-10 ml. Στη συνέχεια, καλύψτε πλήρως τα κύτταρα με Accutase, χρησιμοποιώντας 1-2 ml για φιάλες T25 και 2,5 ml για φιάλες T75. Αφήστε τα κύτταρα να επωαστούν σε θερμοκρασία δωματίου για 8-10 λεπτά για να αποκολληθούν. Μετά την επώαση, αναμείξτε απαλά τα κύτταρα με 10 ml μέσου για να ανασυσταθούν και, στη συνέχεια, φυγοκεντρίστε στα 300xg για 3 λεπτά. Απορρίψτε το υπερκείμενο υγρό, ανασυστάστε τα κύτταρα σε φρέσκο μέσο και μεταφέρετέ τα σε νέες φιάλες που περιέχουν ήδη φρέσκο μέσο.

Freeze medium

Ως μέσο κρυοσυντήρησης, χρησιμοποιούμε πλήρες μέσο ανάπτυξης (συμπεριλαμβανομένου του FBS) + 10% DMSO για επαρκή βιωσιμότητα μετά την απόψυξη, ή CM-1 (αριθμός καταλόγου Cytion 800100), το οποίο περιλαμβάνει βελτιστοποιημένα ωσμοπροστατευτικά και μεταβολικούς σταθεροποιητές για την ενίσχυση της ανάκαμψης και τη μείωση του στρες που προκαλείται από την κρυοσυντήρηση.

Thawing and Culturing Cells

1. Επιβεβαιώστε ότι το φιαλίδιο παραμένει βαθιά παγωμένο κατά την παράδοση, καθώς τα κύτταρα αποστέλλονται σε ξηρό πάγο για να διατηρούνται οι βέλτιστες θερμοκρασίες κατά τη μεταφορά.
2. Κατά την παραλαβή, είτε αποθηκεύστε το κρυοφιαλίδιο αμέσως σε θερμοκρασίες κάτω των -150°C για να διασφαλίσετε τη διατήρηση της κυτταρικής ακεραιότητας, είτε προχωρήστε στο βήμα 3 εάν απαιτείται άμεση καλλιέργεια.
3. Για άμεση καλλιέργεια, αποψύξτε γρήγορα το φιαλίδιο βυθίζοντάς το σε υδατόλουτρο 37°C με καθαρό νερό και αντιμικροβιακό παράγοντα, αναδεύοντας απαλά για 40-60 δευτερόλεπτα μέχρι να παραμείνει ένα μικρό σβόλο πάγου.
4. Εκτελέστε όλα τα επόμενα βήματα υπό αποστειρωμένες συνθήκες σε απορροφητήρα ροής, απολυμαίνοντας το κρυοφιαλίδιο με 70% αιθανόλη πριν από το άνοιγμα.
5. Ανοίξτε προσεκτικά το απολυμασμένο φιαλίδιο και μεταφέρετε το εναιώρημα των κυττάρων σε ένα σωληνάριο φυγοκέντρησης των 15 ml που περιέχει 8 ml θρεπτικού μέσου καλλιέργειας σε θερμοκρασία δωματίου, αναμειγνύοντας απαλά.
6. Φυγοκεντρίστε το μείγμα στα 300 x g για 3 λεπτά για να διαχωριστούν τα κύτταρα και απορρίψτε προσεκτικά το υπερκείμενο που περιέχει το υπόλοιπο μέσο κατάψυξης.
7. Επανασυσσωματώστε απαλά το κυτταρικό σφαιρίδιο σε 10 ml φρέσκου μέσου καλλιέργειας. Για προσκολλημένα κύτταρα, μοιράστε το εναιώρημα σε δύο φιάλες καλλιέργειας T25- για καλλιέργειες εναιωρήματος, μεταφέρετε όλο το μέσο σε μία φιάλη T25 για να προωθήσετε την αποτελεσματική αλληλεπίδραση και ανάπτυξη των κυττάρων.
8. Τηρείτε τα καθιερωμένα πρωτόκολλα υποκαλλιέργειας για τη συνεχή ανάπτυξη και διατήρηση της κυτταρικής σειράς, εξασφαλίζοντας αξιόπιστα πειραματικά αποτελέσματα.

Κύτταρα RWPE-1 | 305217

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO₂, υγροποιημένη ατμόσφαιρα.

Flask Coating

Για βέλτιστη προσκόλληση και βιωσιμότητα μετά την απόψυξη, συνιστούμε τη χρήση **φιαλών ή πλακών με επικάλυψη κολλαγόνου**.

Freezing Procedure

Οι κρουσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των -78 °C καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.

Shipping Conditions

Οι κρουσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των -78 °C καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.

Storage Conditions

Για μακροχρόνια συντήρηση, τοποθετήστε τα φιαλίδια σε υγρό άζωτο σε φάση ατμών σε θερμοκρασία περίπου -150 έως -196 °C. Η αποθήκευση στους -80 °C είναι αποδεκτή μόνο ως σύντομο ενδιάμεσο βήμα πριν από τη μεταφορά σε υγρό άζωτο.

Ποιοτικός έλεγχος / Γενετικό προφίλ / HLA

Sterility

Η μόλυνση από μυκόπλασμα αποκλείεται με τη χρήση τόσο των δοκιμασιών που βασίζονται στην PCR όσο και των μεθόδων ανίχνευσης μυκοπλάσματος με βάση τη φωταύγεια.

Για να διασφαλιστεί ότι δεν υπάρχει μόλυνση από βακτήρια, μύκητες ή ζύμες, οι κυτταροκαλλιέργειες υποβάλλονται σε καθημερινές οπτικές επιθεωρήσεις.