Product sheet

RWPE-1 rakud | 305217

Üldine teave

Description	RWPE-1 rakuliin, mis on saadud 54-aastase kaukaasia mehe eesnäärme epiteelist, kellel ei ole tõendeid eesnäärmevähi kohta, on väärtuslik ressurss biomeditsiinilistes uuringutes, eriti eesnäärme bioloogia ja vähi uurimisel. Need epiteelirakud, mida iseloomustavad nende adhesiivsed kasvuomadused ja tüüpiline epiteeli morfoloogia, immortaliseeriti, kasutades replikatsioonipuudulikku retroviirust, mis kannab inimese papilloomiviiruse 18 (HPV-18) E7 geeni, mis inaktiveerib retinoblastoomi valgu ja soodustab rakkude immortaliseerumist. RWPE-1 rakke, mis pärinevad inimese normaalsest eesnäärmest, kasutatakse eesnäärmevähi uuringutes, kuigi nende androgeeni retseptori ekspressioon on suhteliselt tagasihoidlik, eriti võrreldes eesnäärmevähist pärinevate kasvajaliste rakuliinidega. Epiteelrakuliin RWPE-1 ekspresseerib tsütokeratiini 8 ja 18, mis kinnitab nende epiteelilii̇ni päritolu. Kuigi RWPE-1 rakud ekspresseerivad selliseid kasvajasupressoreid nagu p53 ja pRB, mis näitab nende mittetuumorigeenset iseloomu, on eesnäärme-spetsiifiliste markerite nagu Kallikrein 3 (KLK3) või PSA ekspressioon standardkultuuritingimustes üldiselt madal või puudub. 3D-kultuurides, näiteks Matrigelis, võivad inimese rakud RWPE-1 organiseeruda normaalset eesnäärme arhitektuuri meenutavateks akiinustruktuurideks. Kui tegemist on PSA (prostataspetsiifilise antigeeni) sekretsiooniga vastuseks androgeenide stimuleerimisele, näitavad RWPE-1 rakud eesnäärmevähi rakuliinidega võrreldes vähem väljendunud reaktsiooni. Seega, kuigi RWPE-1 rakud pakuvad väärtuslikku mudelit normaalsete eesnäärme epiteelirakkude põhiomaduste mõistmiseks. RWPE-1 mittetuumorigeenne olemus on mudeliks, mille abil saab uurida üleminekut tuumorigeenseks transformatsiooniks ja vähirakkude, sealhulgas metastaatiliste eesnäärmevähirakkude ja eesnäärme kartsinogeneesi dünaamikat. Selliste faktorite nagu EGF ja kasvuhormoon lisamine kultuuritingimustesse võib täiendavalt selgitada eesnäärme hüperplaasia ja eesnäärmevähi tekkimise protsessi. Kokkuvõttes hõlbustavad RWPE-1 rakud eesnäärmevähi terviklikku mõistmist, alates selle tekkimisest eesnäärme rakuliinides kuni selle avaldumiseni eesnäärmevähi patsientidel.
Organism	Inimene
Tissue	Eesnäärme
Synonyms	RWPE1

Omadused

Age	54 aastat
Gender	Mees
Ethnicity	Kaukaasia
Morphology	Epiteel

Product sheet

RWPE-1 rakud | 305217

Cell type	Eesnäärme epiteelirakk
Growth properties	Kinnipeetav

Regulatiivsed andmed

Citation	RWPE-1 (Cytioni kataloginumber 305217)
Biosafety level	RWPE-1 on Saksamaal klassifitseeritud bioloogilise ohutuse 1. või 2. tasemele (BSL-1/2), sõltuvalt tehtava töö tüübist. Rakuliin pärineb inimese eesnäärme epiteelirakkudest, mis on transfekteeritud HPV-18 ühe koopiaga, ning on B-hepatiidi, C-hepatiidi ja HIV suhtes negatiivne. Viirusosakeste vabanemine on ebatõenäoline, kuna HPV-18 vajab replikatsiooniks diferentseeritud epiteelirakke ja üks genoomi koopia ei vii tavaliselt osakeste moodustumiseni. Selline vabanemine on teoreetiliselt võimalik ainult 3D-kultuurides (nt organotüüpsetes või parvekultuurides), kuid on välistatud monokihilistes kultuurides. Täieliku HPV-18 genoomi olemasolu tõttu liigitatakse RWPE-1 geenitehnoloogilistel eesmärkidel 2. riskirühma organismiks.
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_3791

Biomolekulaarsed andmed

Karyotype	RWPE-1 rakkudel on diploidne kromosoomiploidia ja neil on kromosoomivariatsioonid, näiteks 45, X,-Y ja 51, XY.

Töötlemine

Culture Medium	K-SFM (Me ei paku seda toodet; palun kaaluge teisi tarnijaid. Palun andke meile teada, kui vajate täiendavat abi)
Supplements	Täiendatakse söötme 0,05 mg/ml BPE, 5 ng/ml EGFiga. Keskkonda ei tohi täielikult filtreerida. Lisage BPE ja EGF 10 mL ning pärast steriilset filtreerimist lisage see segu söötmesse.
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Eemaldage kleepunud rakkudelt vana söötme ja peske neid PBS-ga, milles puudub kaltsium ja magneesium. T25 kolbide puhul kasutage 3-5 ml PBS-i ja T75 kolbide puhul 5-10 ml. Seejärel katke rakud täielikult Accutase'iga, kasutades 1-2 ml T25 kolbide puhul ja 2,5 ml T75 kolbide puhul. Laske rakkudel inkubeerida 8-10 minutit toatemperatuuril, et need eralduksid. Pärast inkubeerimist segage rakud ettevaatlikult 10 ml söötmega, et neid resuspenseerida, seejärel tsentrifuugige 3 minutit 300xg juures. Visake supernatant ära, suspenseerige rakud uuesti värskes keskkonnas ja viige need uutesse kolvidesse, mis sisaldavad juba värsket keskkonda.

RWPE-1 rakud | 305217

Freeze medium	Krüosäilitusvedelikusena kasutame täielikku kasvukeskkonda (sh FBS) + 10% DMSO, et tagada piisav elujõulisus pärast sulatamist, või CM-1 (Cytioni kataloginumber 800100), mis sisaldab optimeeritud osmoprotektante ja metaboolseid stabilisaatoreid, et parandada taastumist ja vähendada krüostressi.

Thawing and Culturing Cells

1. Veenduge, et viaal jääb tarnimisel sügavkülmutatud, sest rakud transporditakse kuiva jääga, et säilitada optimaalne temperatuur transpordi ajal.
2. Pärast kättesaamist säilitage krüoviaal kas kohe temperatuuril alla -150 °C, et tagada rakkude terviklikkuse säilimine, või jätkake sammuga 3, kui on vaja koheselt kultiveerida.
3. Kohese kultiveerimise korral sulatage viaali kiiresti, kastes selle 37 °C veevanni puhta vee ja antimikroobse ainega, segades seda õrnalt 40-60 sekundit, kuni alles jääb väike jääklomp.
4. Tehke kõik järgmised toimingud steriilsetes tingimustes vooluhoodis, desinfitseerides krüoviaal enne avamist 70% etanooliga.
5. Avage desinfitseeritud viaali ettevaatlikult ja viige rakususpensioon ettevaatlikult segades 15 ml tsentrifuugitorusse, mis sisaldab 8 ml toatemperatuuril olevat kasvukeskkonda.
6. Rakkude eraldamiseks tsentrifuugige segu 300 x g juures 3 minutit ja visake ülejäänud külmutusvedelikku sisaldav supernatant ettevaatlikult ära.
7. Resuspendeerige rakupellet ettevaatlikult 10 ml värskes kasvukeskkonnas. Adhereeruvate rakkude puhul jagage suspensioon kahe T25 kultuurkolvi vahel; suspensioonikultuuride puhul kandke kogu söötmekeskkond ühte T25 kolbi, et soodustada rakkude tõhusat koostoimet ja kasvu.
8. Järgige kehtestatud subkultuuriprotokolle rakuliini jätkuvaks kasvuks ja säilitamiseks, tagades usaldusväärsed katsetulemused.

Incubation Atmosphere	37°C, 5% $_{CO2}$, niisutatud atmosfäär.
Flask Coating	Puudub
Freezing Procedure	Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu -78 °C. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige viaalid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

RWPE-1 rakud | 305217

Shipping Conditions	Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu -78 °C. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige viaalid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.
Storage Conditions	Pikaajaliseks säilitamiseks asetage viaalid aurufaasis vedela lämmastikuga umbes -150 kuni -196 °C juures. Säilitamine temperatuuril -80 °C on vastuvõetav ainult lühikese vaheetapina enne vedela lämmastikuga üleviimist.

Kvaliteedikontroll ja molekulaaranalüüs

Sterility	Mükoplasmakontaminatsioon on välistatud nii PCR-põhiste analüüside kui ka luminestsentsil põhinevate mükoplasma tuvastamise meetodite abil. Bakteriaalse, seene- või pärmsaaste puudumise tagamiseks kontrollitakse rakukultuure iga päev visuaalselt.
STR-profiil	**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