Product sheet

RWPE-1-solut | 305217

Yleisiä tietoja

Description	RWPE-1-solulinja, joka on peräisin 54-vuotiaan valkoihoisen miehen eturauhasen epiteelistä, jolla ei ole merkkejä eturauhassyövästä, on arvokas resurssi biolääketieteellisessä tutkimuksessa, erityisesti eturauhasen biologiaa ja syöpää koskevissa tutkimuksissa. Nämä epiteelisolut, joille on ominaista adheesiokasvuominaisuudet ja tyypillinen epiteelimorfologia, immortalisoitiin käyttämällä replikaatiopuutteista retrovirusta, joka kantaa ihmisen papilloomavirus 18:n (HPV-18) E7-geeniä, joka inaktivoi retinoblastoomaproteiinin ja edistää solujen kuolemattomuutta. RWPE-1-soluja, jotka ovat peräisin ihmisen normaalista eturauhasesta, käytetään eturauhassyövän tutkimuksessa, vaikka niiden androgeenireseptorin ilmentyminen on suhteellisen vaatimatonta, erityisesti verrattuna tumorigeenisiin eturauhassyöpäperäisiin solulinjoihin. Epiteelisolulinja RWPE-1 ilmentää sytokeratiineja 8 ja 18, jotka vahvistavat sen epiteelilinjan. RWPE-1-solut ilmentävät kasvainsuppressoreita, kuten p53:a ja pRB:tä, mikä kuvastaa niiden ei-tuumorigeenistä luonnetta, mutta eturauhaspesifisten merkkiaineiden, kuten Kallikrein 3:n (KLK3) tai PSA:n, ilmentyminen on yleensä vähäistä tai puuttuu kokonaan tavanomaisissa viljelyolosuhteissa. 3D-viljelmissä, kuten Matrigeliin muodostetuissa viljelmissä, ihmisen RWPE-1-solut voivat järjestäytyä acinarirakenteiksi, jotka muistuttavat normaalia eturauhasen arkkitehtuuria. RWPE-1-solut erittävät PSA:ta (eturauhasspesifinen antigeeni) vastauksena androgeenistimulaatioon, ja niiden reaktio on vähäisempi kuin eturauhassyöpäsolulinjojen. Näin ollen RWPE-1-solut tarjoavat arvokkaan mallin normaalien eturauhasen epiteelisolujen perusominaisuuksien ymmärtämiseksi. RWPE-1:n ei-tuumorigeeninen luonne toimii mallina tutkittaessa siirtymistä tumorigeeniseen transformaatioon ja syöpäsolujen dynamiikkaa, mukaan lukien metastaattiset eturauhassyöpäsolut ja eturauhasen karsinogeneesi. Ottamalla viljelyolosuhteisiin mukaan EGF:n ja kasvuhormonin kaltaisia tekijöitä voidaan edelleen selvittää eturauhasen liikakasvuun ja eturauhassyövän etenemiseen liittyviä reittejä. Yhteenvetona voidaan todeta, että RWPE-1-solut helpottavat eturauhassyövän kokonaisvaltaista ymmärtämistä sen alkamisesta eturauhassolulinjoissa aina sen ilmenemiseen eturauhassyöpäpotilailla.
Organism	Ihminen
Tissue	Eturauhanen
Synonyms	RWPE1

Ominaisuudet

Age	54 vuotta
Gender	Mies
Ethnicity	Kaukasialainen
Morphology	Epiteeli

Product sheet

RWPE-1-solut | 305217

Cell type	Eturauhasen epiteelisolu
Growth properties	Tarttuva

Sääntelytiedot

Citation	RWPE-1 (Cytionin luettelonumero 305217)
Biosafety level	RWPE-1 on luokiteltu Saksassa bioturvallisuustasolle 1 tai 2 (BSL-1/2) suoritettavan työn tyypistä riippuen. Solulinja on peräisin ihmisen eturauhasen epiteelisoluista, jotka on transfektoitu yhdellä HPV-18-kopiolla, ja se on negatiivinen B-hepatiitin, C-hepatiitin ja HIV:n suhteen. Virushiukkasten vapautuminen on epätodennäköistä, koska HPV-18 vaatii erilaistuneita epiteelisoluja replikaatiokseen, eikä yksittäinen genomikopio yleensä johda hiukkasten muodostumiseen. Tällainen vapautuminen on vain teoreettisesti mahdollista 3D-viljelmissä (esim. organotyyppisissä tai lauttakulttuureissa), mutta se on poissuljettua yksikerrosviljelmissä. Koska RWPE-1:ssä on koko HPV-18-genomi, se luokitellaan geenitekniikan kannalta riskiryhmän 2 organismiksi.
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_3791

Biomolekyylitiedot

Karyotype	RWPE-1-soluilla on diploidinen kromosomiploidia, ja niissä esiintyy kromosomimuunnoksia, kuten 45, X,-Y ja 51, XY.

Käsittely

Culture Medium	K-SFM (Emme toimita tätä tuotetta; harkitse muita toimittajia.) Ilmoittakaa meille, jos tarvitsette lisäapua)
Supplements	Täydennetään elatusainetta 0,05 mg/ml BPE:llä, 5 ng/ml EGF:llä. Väliaineen ei pitäisi olla täysin suodatettu. Lisää BPE:tä ja EGF:ää 10 ml:aan, ja steriilin suodatuksen jälkeen tämä seos lisätään väliaineeseen.
Dissociation Reagent	Accutase

RWPE-1-solut | 305217

Subculturing	Poista vanha väliaine tarttuneista soluista ja pese ne PBS:llä, josta puuttuu kalsiumia ja magnesiumia. Käytä T25-pulloissa 3-5 ml PBS:ää ja T75-pulloissa 5-10 ml. Peitä sitten solut kokonaan Accutase-valmisteella, käyttäen 1-2 ml T25-pulloissa ja 2,5 ml T75-pulloissa. Anna solujen inkuboitua huoneenlämmössä 8-10 minuuttia solujen irtoamiseksi. Inkuboinnin jälkeen solut sekoitetaan varovasti 10 ml:n väliaineella niiden resuspendoimiseksi ja sentrifugoidaan sitten 300xg:n nopeudella 3 minuutin ajan. Hävitä supernatantti, suspendoi solut uudelleen tuoreeseen väliaineeseen ja siirrä ne uusiin pulloihin, jotka sisältävät jo tuoretta väliaineita.
Freeze medium	Kryosäilytysmediana käytämme täydellistä kasvualustaa (mukaan lukien FBS) + 10 % DMSO:ta riittävän sulatuksen jälkeisen elinkelpoisuuden varmistamiseksi tai CM-1:tä (Cytionin luettelonumero 800100), joka sisältää optimoituja osmoprotectantteja ja metabolisia stabilisaattoreita, jotka parantavat elpymistä ja vähentävät kryosäilytyksen aiheuttamaa stressiä.

Thawing and Culturing Cells

1. Varmista, että injektiopullo pysyy syväjäädytettynä toimitettaessa, sillä solut kuljetetaan kuivajäässä, jotta optimaalinen lämpötila säilyy kuljetuksen aikana.
2. Vastaanotettaessa kryopullo joko säilytetään välittömästi alle -150 °C:n lämpötilassa solujen eheyden säilyttämiseksi tai edetään vaiheeseen 3, jos tarvitaan välitöntä viljelyä.
3. Välitöntä viljelyä varten sulata injektiopullo nopeasti upottamalla se 37 °C:n vesihauteeseen, jossa on puhdasta vettä ja mikrobilääkettä, ja sekoittamalla sitä varovasti 40-60 sekunnin ajan, kunnes jäästä on jäljellä pieni jäämöhkäle.
4. Suorita kaikki seuraavat vaiheet steriileissä olosuhteissa virtaushupussa ja desinfioi kryopullo 70-prosenttisella etanolilla ennen avaamista.
5. Avaa desinfioitu injektiopullo varovasti ja siirrä solususpensio 15 ml:n sentrifugiputkeen, joka sisältää 8 ml huoneenlämpöistä elatusainetta, varovasti sekoittaen.
6. Sentrifugoi seosta 300 x g:n voimakkuudella 3 minuutin ajan solujen erottamiseksi ja hävitä varovasti supernatantti, joka sisältää jäännöspakastusmediumia.
7. Suspendoidaan solupelletti varovasti uudelleen 10 ml:aan tuoretta elatusainetta. Jos solut ovat tarttuvia, jaa suspensio kahden T25-kolvin kesken; jos kyseessä ovat suspensioviljelmät, siirrä kaikki väliaine yhteen T25-kolviin solujen tehokkaan vuorovaikutuksen ja kasvun edistämiseksi.
8. Noudata vakiintuneita aliviljelyprotokollia solulinjan jatkuvan kasvun ja ylläpidon varmistamiseksi ja luotettavien kokeellisten tulosten varmistamiseksi.

Incubation Atmosphere	37 °C, 5 % $_{CO2}$, kostutettu ilmakehä.

RWPE-1-solut | 305217

Flask Coating	Ei mitään
Freezing Procedure	Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäässä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.
Shipping Conditions	Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäässä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.
Storage Conditions	Pitkäaikaissäilytystä varten injektiopullot asetetaan höyryfaasissa olevaan nestemäiseen typpeen noin -150 - -196 °C:een. Säilytys -80 °C:ssa on hyväksyttävää vain lyhyenä välivaiheena ennen siirtoa nestemäiseen typpeen.

Laadunvalvonta ja molekyylianalyysi

Sterility	Mykoplasmakontaminaatio suljetaan pois sekä PCR-pohjaisilla määrityksillä että luminesenssiin perustuvilla mykoplasman osoitusmenetelmillä. Bakteeri-, sieni- tai hiivakontaminaation välttämiseksi soluviljelmät tarkastetaan päivittäin silmämääräisesti.
STR-profiili	**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