Product sheet

RWPE-1 sejtek | 305217

Általános információk

Description	Az RWPE-1 sejtvonal, amely egy 54 éves kaukázusi férfi prosztata epitéljéből származik, és nincs nyoma prosztataráknak, értékes erőforrás az orvosbiológiai kutatásban, különösen a prosztata biológiájának és rákjának vizsgálatához. Ezeket a hámsejteket, amelyeket tapadási növekedési tulajdonságaik és tipikus hámmorfológiájuk jellemez, egy olyan replikációhiányos retrovírus segítségével immortalizálták, amely a humán papillomavírus 18 (HPV-18) E7 génjét hordozza, amely inaktiválja a retinoblasztóma fehérjét és elősegíti a sejtek immortalizációját. A normális emberi prosztatából származó RWPE-1 sejteket a prosztatarák kutatásában használják, bár androgénreceptor-expressziójuk viszonylag szerény, különösen a tumorigén prosztatarákból származó sejtvonalakhoz képest. Az RWPE-1 epitél sejtvonal expresszálja a 8-as és 18-as citokeratinokat, amelyek megerősítik epitélvonalukat. Míg az RWPE-1 sejtek expresszálnak tumorszupresszorokat, például a p53-at és a pRB-t, ami nem tumorigén jellegüket tükrözi, a prosztata-specifikus markerek, például a Kallikrein 3 (KLK3) vagy a PSA expressziója általában alacsony vagy hiányzik standard tenyésztési körülmények között. 3D kultúrákban, például Matrigelben kialakított kultúrákban az RWPE-1 humán sejtek a normális prosztata architektúrára emlékeztető acináris struktúrákba szerveződhetnek. Ami a PSA (prosztata-specifikus antigén) kiválasztását illeti androgén stimulációra adott válaszként, az RWPE-1 sejtek kevésbé kifejezett reakciót mutatnak a prosztatarákos sejtvonalakhoz képest. Ezért, míg az RWPE-1 sejtek értékes modellt kínálnak a normál prosztata epitélsejtek alaptulajdonságainak megértéséhez. Az RWPE-1 nem tumorigén jellege modellként szolgál a tumorigén átalakulásba való átmenet és a rákos sejtek dinamikájának tanulmányozására, beleértve a metasztatikus prosztatarák sejteket és a prosztata karcinogenezist. Az olyan faktorok, mint az EGF és a növekedési hormon beillesztése a tenyésztési körülményekbe tovább tisztázhatja a prosztata hiperpláziában és a prosztatarák felé történő progresszióban szerepet játszó útvonalakat. Összefoglalva, az RWPE-1 sejtek megkönnyítik a prosztatarák átfogó megértését, a prosztata sejtvonalakban való kialakulásától a prosztatarákos betegekben való megnyilvánulásáig.
Organism	Emberi
Tissue	Prosztata
Synonyms	RWPE1

Jellemzők

Age	54 év
Gender	Férfi
Ethnicity	Kaukázusi
Morphology	Epithelialis

RWPE-1 sejtek | 305217

Cell type	A prosztata epithelsejtje
Growth properties	Adherent

Szabályozási adatok

Citation	RWPE-1 (Cytion katalógusszám: 305217)
Biosafety level	Az RWPE-1 Németországban az elvégzett munka típusától függően az 1. vagy 2. biológiai biztonsági szint (BSL-1/2) kategóriába tartozik. A sejtvonal a HPV-18 egyetlen példányával transzfektált humán prosztata epitélsejtekből származik, és negatív a Hepatitis B, Hepatitis C és HIV-re. A vírusrészecskék felszabadulása valószínűtlen, mivel a HPV-18 differenciált epitélsejteket igényel a replikációhoz, és egyetlen genomkópia jellemzően nem vezet részecskeképződéshez. Az ilyen felszabadulás csak elméletileg lehetséges 3D kultúrákban (pl. organotípusos vagy raftkultúrákban), de monolayer kultúrákban kizárt. A teljes HPV-18 genom jelenléte miatt az RWPE-1 géntechnológiai célokra a 2. kockázati csoportba tartozó szervezetnek minősül.
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_3791

Biomolekuláris adatok

Karyotype	Az RWPE-1 sejtek diploid kromoszóma-ploidiával rendelkeznek, és olyan kromoszóma-variációkat mutatnak, mint a 45, X,-Y és 51, XY.

A kezelése

Culture Medium	K-SFM (Ezt a terméket nem szállítjuk; kérjük, vegyen figyelembe más beszállítókat. Kérjük, jelezze, ha további segítségre van szüksége)
Supplements	A táptalajt egészítsük ki 0,05 mg/ml BPE-vel, 5 ng/ml EGF-fel. A táptalajt nem szabad teljesen szűrni. Adjunk hozzá 10 ml BPE-t és EGF-et, és steril szűrés után keverjük ezt a keveréket a táptalajba.
Dissociation Reagent	Accutase

RWPE-1 sejtek | 305217

Subculturing	Távolítsa el a régi táptalajt a megtapadt sejtekről, és mossa őket kalcium- és magnéziummentes PBS-szel. T25-ös lombikokhoz 3-5 ml PBS-t, T75-ös lombikokhoz pedig 5-10 ml-t használjunk. Ezután fedjük be a sejteket teljesen Accutase-zal, T25 lombikok esetében 1-2 ml-t, T75 lombikok esetében 2,5 ml-t használva. A sejteket 8-10 percig hagyjuk szobahőmérsékleten inkubálni, hogy leváljanak. Az inkubálás után óvatosan keverjük össze a sejteket 10 ml tápfolyadékkal, hogy reszuszpendáljuk őket, majd centrifugáljuk 300xg-nél 3 percig. Dobja el a felülúszót, szuszpendálja újra a sejteket friss tápfolyadékban, és helyezze át őket új lombikokba, amelyek már friss tápfolyadékot tartalmaznak.
Freeze medium	Krioprezerváló táptalajként teljes növekedési táptalajt (beleértve az FBS-t) + 10% DMSO-t használunk a megfelelő kiolvasztás utáni életképesség érdekében, vagy CM-1-et (Cytion katalógusszám: 800100), amely optimalizált ozmoprotektánsokat és metabolikus stabilizátorokat tartalmaz a regenerálódás fokozása és a krio-indukált stressz csökkentése érdekében.

Thawing and Culturing Cells

1. Ellenőrizze, hogy az injekciós üveg a szállításkor mélyhűtött marad-e, mivel a sejteket szárazjégen szállítják, hogy a szállítás során az optimális hőmérsékletet fenntartsák.
2. Átvételt követően vagy azonnal tárolja a krioampullát -150 °C alatti hőmérsékleten a sejtek integritásának megőrzése érdekében, vagy folytassa a 3. lépéssel, ha azonnali tenyésztésre van szükség.
3. Azonnali tenyésztés esetén gyorsan fel kell olvasztani az injekciós üveget úgy, hogy tiszta vízzel és antimikrobiális szerrel ellátott 37 °C-os vízfürdőbe merítjük, és 40-60 másodpercig óvatosan kevergetjük, amíg egy kis jégcsomó nem marad.
4. Az összes további lépést steril körülmények között, áramlásos elszívóban végezzük el, és nyitás előtt fertőtlenítsük a kriofülkét 70%-os etanollal.
5. Óvatosan nyissa fel a fertőtlenített fiolát, és a sejtszuszpenziót óvatosan összekeverve helyezze át egy 15 ml-es centrifugacsőbe, amely 8 ml szobahőmérsékletű táptalajt tartalmaz.
6. Centrifugáljuk az elegyet 300 x g-n 3 percig a sejtek szétválasztásához, és óvatosan dobjuk el a maradék fagyasztóközeget tartalmazó felülúszót.
7. Óvatosan szuszpendáljuk újra a sejtpelletet 10 ml friss táptalajban. Adhezív sejtek esetében ossza a szuszpenziót két T25-ös tenyésztőlombik között; szuszpenziós kultúrák esetében az összes tápfolyadékot tegye át egy T25-ös lombikba a hatékony sejtkölcsönhatás és növekedés elősegítése érdekében.
8. A sejtvonal folyamatos növekedése és fenntartása érdekében tartsa be a megállapított szubkultúra protokollokat, biztosítva a megbízható kísérleti eredményeket.

Incubation Atmosphere	37°C, 5%$_{CO2}$, párásított légkör.

RWPE-1 sejtek | 305217

Flask Coating	Nincs
Freezing Procedure	A kriokonzervált sejtvonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül -78 °C-on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.
Shipping Conditions	A kriokonzervált sejtvonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül -78 °C-on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.
Storage Conditions	Hosszú távú tartósítás céljából helyezze az üvegeket gőzfázisú folyékony nitrogénbe, körülbelül -150 és -196 °C közötti hőmérsékleten. A -80 °C-on történő tárolás csak rövid átmeneti lépésként fogadható el a folyékony nitrogénbe való átvitel előtt.

Minőségellenőrzés és molekuláris elemzés

Sterility	A mikoplazma-szennyeződést mind a PCR-alapú vizsgálatokkal, mind a lumineszcencia-alapú mikoplazma-kimutatási módszerekkel kizárják. A bakteriális, gombás vagy élesztőgombás szennyeződés elkerülése érdekében a sejtkultúrákat napi vizuális ellenőrzésnek vetik alá.
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