

## RWPE-1 sejtek | 305217

## Általános információk

## Description

Az RWPE-1 sejtvonala, 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 inaktíválja 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 sejtvonala expresszálja a 8-as és 18-as citokeratinokat, amelyek megerősítik epitélvonalukat. Míg az RWPE-1 sejtek expresszálnak tumorszuppresszorokat, 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 sejtvonalaiban 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 sejtvonala HPV-18 egyetlen példányával transzfectált humán prosztata epithelsejtekből származik, és negatív a Hepatitis B, Hepatitis C és HIV-re. A vírusrészecskék felszabadulása valószínűtlen, mivel a HPV-18 differenciált epithelsejteket igényel a replikációhoz, és egyetlen genomkópia jellemzően nem vezet részecskéképződéshez. 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-ploidiaival 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  $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$  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  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ -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 krioümlékét 70%-os etanollal.
5. Óvatosan nyissa fel a fertőtlenített fiolát, és a sejtuszpenziót óvatosan összekeverve helyezze át egy 15 ml-es centrifugacsőbe, amely 8 ml szobahőmérsékletű táptalajt tartalmaz.
6. Centrifugáljuk az elegyet  $300 \times g$ -n 3 percig a sejtek szétválasztásához, és óvatosan dobjuk el a maradék fagyasztóközeget tartalmazó felülúszót.
7. Óvatosan szuszpendáljuk újra a sejtet 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 sejt vonal folyamatos növekedése és fenntartása érdekében tartsa be a megállapított szubkultúra protokollokat, biztosítva a megbízható kísérleti eredményeket.

**Incubation Atmosphere**

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$ ,  $5\%_{\text{CO}_2}$ , párasított légkör.

## RWPE-1 sejtek | 305217

### Flask Coating

A felolvasztás utáni optimális kötődés és életképesség érdekében **kollagénnel bevont lombikok vagy lemezek** használatát javasoljuk.

### Freezing Procedure

A kriokonzervált sejtvonalatokat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül  $-78\text{ °C}$ -on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

### Shipping Conditions

A kriokonzervált sejtvonalatokat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül  $-78\text{ °C}$ -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  $-196\text{ °C}$  közötti hőmérsékleten. A  $-80\text{ °C}$ -on történő tárolás csak rövid átmeneti lépésként fogadható el a folyékony nitrogénbe való átvitel előtt.

## Minőségellenőrzés / Genetikai profil / HLA

### 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 sejt kultúrákat napi vizuális ellenőrzésnek vetik alá.