Product sheet

Cellule RWPE-1 | 305217

Informazioni generali

Description	La linea cellulare RWPE-1, derivata dall'epitelio prostatico di un uomo caucasico di 54 anni senza evidenza di cancro alla prostata, è una risorsa preziosa nella ricerca biomedica, in particolare per gli studi sulla biologia e sul cancro della prostata. Queste cellule epiteliali, caratterizzate da proprietà di crescita aderente e dalla tipica morfologia epiteliale, sono state immortalizzate utilizzando un retrovirus con deficit di replicazione che trasporta il gene E7 del papillomavirus umano 18 (HPV-18), che inattiva la proteina retinoblastoma e promuove l'immortalizzazione cellulare. Le cellule RWPE-1, provenienti da una prostata umana normale, sono utilizzate nella ricerca sul cancro alla prostata, sebbene la loro espressione del recettore degli androgeni sia relativamente modesta, soprattutto se confrontata con le linee cellulari tumorigeniche derivate dal cancro alla prostata. La linea cellulare epiteliale RWPE-1 esprime le citocheratine 8 e 18, che confermano il loro lignaggio epiteliale. Mentre le cellule RWPE-1 esprimono soppressori tumorali come p53 e prB, il che riflette la loro natura non tumorigenica, l'espressione di marcatori specifici della prostata come la callicreina 3 (KLK3) o il PSA è generalmente bassa o assente in condizioni di coltura standard. In colture 3D, come quelle formate in Matrigel, le cellule umane RWPE-1 possono organizzarsi in strutture acinari che ricordano la normale architettura della prostata. Per quanto riguarda la secrezione di PSA (Antigene Prostatico Specifico) in risposta alla stimolazione con androgeni, le cellule RWPE-1 mostrano una reazione meno pronunciata rispetto alle linee cellulari di cancro alla prostata. Pertanto, le cellule RWPE-1 rappresentano un modello prezioso per comprendere le proprietà di base delle cellule epiteliali prostatiche normali. La natura non tumorigenica di RWPE-1 funge da modello per studiare la transizione verso la trasformazione tumorigenica e la dinamica delle cellule tumorali, comprese le cellule metastatiche di cancro alla prostata e la carcinogenesi prostatica. L'inclusione di fattori come l'EGF e l'ormone della crescita nelle condizioni di coltura può ulteriormente chiarire le vie coinvolte nell'iperplasia prostatica e nella progressione verso il cancro della prostata. In sintesi, le cellule RWPE-1 facilitano una comprensione completa del cancro alla prostata, dal suo inizio nelle linee cellulari prostatiche alla sua manifestazione nei pazienti affetti da cancro alla prostata.
Organism	Umano
Tissue	Prostata
Synonyms	RWPE1

Caratteristiche

Age	54 anni
Gender	Uomo
Ethnicity	Caucasico
Morphology	Epiteliale

Cellule RWPE-1 | 305217

Cell type	Cellula epiteliale della prostata
Growth properties	Aderente

Dati normativi

Citation	RWPE-1 (catalogo Cytion numero 305217)
Biosafety level	La RWPE-1 è classificata in Germania come livello di biosicurezza 1 o 2 (BSL-1/2), a seconda del tipo di lavoro svolto. La linea cellulare proviene da cellule epiteliali prostatiche umane trasfettate con una singola copia di HPV-18 ed è negativa per l'epatite B, l'epatite C e l'HIV. Il rilascio di particelle virali è improbabile, poiché l'HPV-18 richiede cellule epiteliali differenziate per la replicazione e una singola copia del genoma non porta tipicamente alla formazione di particelle. Tale rilascio è solo teoricamente possibile in colture 3D (ad esempio, colture organotipiche o raft), ma è escluso in colture monostrato. A causa della presenza del genoma completo di HPV-18, RWPE-1 è classificato come organismo del Gruppo di rischio 2 ai fini dell'ingegneria genetica.
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_3791

Dati biomolecolari

Karyotype	Le cellule RWPE-1 hanno una ploidia cromosomica diploide e mostrano variazioni cromosomiche come 45, X,-Y, e 51, XY.

Manipolazione

Culture Medium	K-SFM (Non forniamo questo prodotto; si prega di considerare altri fornitori. Vi preghiamo di comunicarci se avete bisogno di ulteriore assistenza)
Supplements	Integrare il terreno con 0,05 mg/mL di BPE, 5 ng/mL di EGF. Il terreno non deve essere interamente filtrato. Aggiungere BPE ed EGF a 10 mL e, dopo aver filtrato sterilmente, incorporare questa miscela al terreno di coltura.
Dissociation Reagent	Accutase

Cellule RWPE-1 | 305217

Subculturing	Rimuovere il vecchio terreno dalle cellule aderenti e lavarle con PBS privo di calcio e magnesio. Per le fiasche T25, utilizzare 3-5 ml di PBS e per le fiasche T75, 5-10 ml. Quindi, coprire completamente le cellule con Accutase, utilizzando 1-2 ml per le fiasche T25 e 2,5 ml per le fiasche T75. Lasciare incubare le cellule a temperatura ambiente per 8-10 minuti per staccarle. Dopo l'incubazione, mescolare delicatamente le cellule con 10 ml di terreno per risospenderle, quindi centrifugare a 300xg per 3 minuti. Scartare il surnatante, risospendere le cellule in terreno fresco e trasferirle in nuove fiasche contenenti terreno fresco.
Freeze medium	Come terreno di crioconservazione, utilizziamo un terreno di crescita completo (incluso FBS) + 10% DMSO per un'adeguata vitalità post-scongelamento, o CM-1 (numero di catalogo Cytion 800100), che include osmoprotettori e stabilizzatori metabolici ottimizzati per migliorare il recupero e ridurre lo stress crio-indotto.
Thawing and Culturing Cells	1. Verificare che la fiala rimanga profondamente congelata al momento della consegna, poiché le cellule vengono spedite con ghiaccio secco per mantenere le temperature ottimali durante il trasporto. 2. Al ricevimento, conservare immediatamente la criovial a temperature inferiori a -150°C per garantire la conservazione dell'integrità cellulare, oppure procedere al punto 3 se è necessaria una coltura immediata. 3. Per la coltura immediata, scongelare rapidamente la fiala immergendola in un bagno d'acqua a 37°C con acqua pulita e un agente antimicrobico, agitando delicatamente per 40-60 secondi finché non rimane un piccolo grumo di ghiaccio. 4. Eseguire tutte le fasi successive in condizioni di sterilità in una cappa a flusso, disinfettando la criovial con etanolo al 70% prima dell'apertura. 5. Aprire con cautela la fiala disinfettata e trasferire la sospensione cellulare in una provetta da centrifuga da 15 ml contenente 8 ml di terreno di coltura a temperatura ambiente, mescolando delicatamente. 6. Centrifugare la miscela a 300 x g per 3 minuti per separare le cellule e scartare con cura il surnatante contenente il terreno di coltura residuo. 7. Risospendere delicatamente il pellet cellulare in 10 ml di terreno di coltura fresco. Per le cellule aderenti, dividere la sospensione tra due fiasche di coltura T25; per le colture in sospensione, trasferire tutto il terreno in una fiasca T25 per promuovere l'interazione e la crescita delle cellule. 8. Attenersi ai protocolli di subcoltura stabiliti per la crescita e il mantenimento continui della linea cellulare, garantendo risultati sperimentali affidabili.
Incubation Atmosphere	37°C, 5%$_{CO2}$, atmosfera umidificata.
Flask Coating	Nessuno

Cellule RWPE-1 | 305217

Freezing Procedure	Le linee cellulari crioconservate vengono spedite su ghiaccio secco in confezioni isolate e convalidate, con una quantità di refrigerante sufficiente a mantenere circa -78 °C durante il trasporto. Al ricevimento, ispezionare immediatamente il contenitore e trasferire immediatamente le fiale in un luogo di conservazione appropriato.
Shipping Conditions	Le linee cellulari crioconservate vengono spedite su ghiaccio secco in confezioni isolate e convalidate, con una quantità di refrigerante sufficiente a mantenere circa -78 °C durante il trasporto. Al ricevimento, ispezionare immediatamente il contenitore e trasferire immediatamente le fiale in un luogo di conservazione appropriato.
Storage Conditions	Per la conservazione a lungo termine, porre le fiale in azoto liquido in fase vapore a una temperatura compresa tra -150 e -196 °C circa. La conservazione a -80 °C è accettabile solo come breve fase intermedia prima del trasferimento in azoto liquido.

Controllo qualità e analisi molecolare

Sterility	La contaminazione da micoplasma viene esclusa utilizzando sia saggi basati sulla PCR sia metodi di rilevamento del micoplasma basati sulla luminescenza. Per garantire l'assenza di contaminazione batterica, fungina o da lieviti, le colture cellulari sono sottoposte a ispezioni visive quotidiane.
Profilo STR	**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