Product sheet

RWPE-1 ląstelės | 305217

Bendra informacija

Description	RWPE-1 ląstelių linija, išvesta iš 54 metų baltaodžio vyro, neturinčio prostatos vėžio požymių, prostatos epitelio, yra vertingas biomedicininių tyrimų šaltinis, ypač prostatos biologijos ir vėžio tyrimams. Šios epitelio ląstelės, pasižyminčios lipnumo augimo savybėmis ir tipiška epitelio morfologija, buvo imortalizuotos naudojant replikacijos deficito retrovirusą, kuriame yra žmogaus papilomos viruso 18 (ŽPV-18) genas E7, inaktyvuojantis retinoblastomos baltymą ir skatinantis ląstelių imortalizaciją. RWPE-1 ląstelės, kilusios iš normalios žmogaus prostatos, naudojamos prostatos vėžio tyrimams, nors jų androgenų receptorių raiška yra palyginti nedidelė, ypač lyginant su navikinėmis prostatos vėžio ląstelių linijomis. RWPE-1 epitelinių ląstelių linija RWPE-1 ekspresuoja citokeratinus 8 ir 18, kurie patvirtina jų epitelinę liniją. Nors RWPE-1 ląstelės išreiškia tokius naviko slopintojus kaip p53 ir pRB, o tai rodo, kad jos nėra navikinės, prostatai būdingų žymenų, tokių kaip kallikreinas 3 (KLK3) ar PSA, raiška standartinėmis kultūros sąlygomis paprastai yra maža arba jos visai nėra. 3D kultūrose, pavyzdžiui, suformuotose Matrigelyje, žmogaus RWPE-1 ląstelės gali susiformuoti į acinarines struktūras, primenančias normalią prostatos struktūrą. Kai kalbama apie PSA (prostatos specifinio antigeno) sekreciją reaguojant į androgenų stimuliaciją, RWPE-1 ląstelės pasižymi ne tokia ryškia reakcija, palyginti su prostatos vėžio ląstelių linijomis. Todėl, nors RWPE-1 ląstelės yra vertingas modelis, padedantis suprasti bazines normalių prostatos epitelio ląstelių savybes. RWPE-1 ląstelės nėra tumorigeninės, todėl jos gali būti pavyzdžiu tiriant perėjimą prie tumorigeninės transformacijos ir vėžinių ląstelių dinamiką, įskaitant metastazinio prostatos vėžio ląsteles ir prostatos kancerogenezę. Į kultūros sąlygas įtraukus tokius veiksnius, kaip EGF ir augimo hormonas, galima toliau aiškintis prostatos hiperplazijos ir prostatos vėžio progresavimo kelius. Apibendrinant galima teigti, kad RWPE-1 ląstelės padeda visapusiškai suprasti prostatos vėžį - nuo jo atsiradimo prostatos ląstelių linijose iki pasireiškimo prostatos vėžiu sergantiems pacientams.
Organism	Žmogus
Tissue	Prostatos
Synonyms	RWPE1

Charakteristikos

Age	54 metai
Gender	Vyras
Ethnicity	Kaukaziečių
Morphology	Epitelis
Cell type	Prostatos epitelio ląstelė

RWPE-1 ląstelės | 305217

Growth properties	Prigludęs

Reguliavimo duomenys

Citation	RWPE-1 (Cytion katalogo numeris 305217)
Biosafety level	RWPE-1 Vokietijoje priskiriamas 1 arba 2 biologinės saugos lygiui (BSL-1/2), priklausomai nuo atliekamo darbo tipo. Ląstelių linija yra kilusi iš žmogaus prostatos epitelio ląstelių, transfekuotų viena ŽPV-18 kopija, ir yra neigiama dėl hepatito B, hepatito C ir ŽIV. Viruso dalelių išsiskyrimas mažai tikėtinas, nes ŽPV-18 replikacijai reikalingos diferencijuotos epitelio ląstelės, o viena genomo kopija paprastai nesukelia dalelių susidarymo. Toks išsiskyrimas teoriškai įmanomas tik 3D kultūrose (pvz., organotipinėse arba plaustų kultūrose), bet neįmanomas viensluoksnėse kultūrose. Dėl to, kad yra visas ŽPV-18 genomas, genų inžinerijos tikslais RWPE-1 priskiriamas 2 rizikos grupės organizmui.
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_3791

Biomolekuliniai duomenys

Karyotype	RWPE-1 ląstelės turi diploidinę chromosomų ploidiją ir pasižymi tokiomis chromosomų variacijomis kaip 45, X,-Y ir 51, XY.

Tvarkymas

Culture Medium	K-SFM (Mes netiekiame šio gaminio; prašome apsvarstyti kitus tiekėjus. Praneškite mums, jei jums reikia papildomos pagalbos)
Supplements	Papildykite terpę 0,05 mg/ml BPE, 5 ng/ml EGF. Terpė neturėtų būti visiškai filtruojama. BPE ir EGF įpilkite į 10 ml ir, steriliai išfiltravę, įmaišykite šį mišinį į terpę.
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Pašalinkite seną terpę nuo prilipusių ląstelių ir nuplaukite jas PBS, kuriame nėra kalcio ir magnio. T25 kolboms naudokite 3-5 ml PBS, o T75 kolboms - 5-10 ml. Tuomet visiškai užpilkite ląsteles "Accutase", naudodami 1-2 ml T25 kolboms ir 2,5 ml T75 kolboms. Leiskite ląstelėms inkubuotis kambario temperatūroje 8-10 minučių, kad jos atsiskirtų. Po inkubacijos atsargiai sumaišykite ląsteles su 10 ml terpės, kad jos vėl suspenduotų, tada 3 minutes centrifuguokite 300xg greičiu. Išmeskite supernatantą, vėl sutirpinkite ląsteles šviežioje terpėje ir perkelkite jas į naujas kolbas, kuriose jau yra šviežia terpė.

RWPE-1 ląstelės | 305217

Freeze medium	Kaip kriokonservavimo terpę naudojame visišką augimo terpę (įskaitant FBS) + 10 % DMSO, kad būtų užtikrintas tinkamas gyvybingumas po atšildymo, arba CM-1 (Cytion katalogo numeris 800100), kurioje yra optimizuotų osmoprotektorių ir medžiagų apykaitos stabilizatorių, kad būtų pagerintas atsigavimas ir sumažintas kriokonservavimo sukeltas stresas.

Thawing and Culturing Cells

1. Patikrinkite, ar pristatant buteliuką jis išlieka gerai užšaldytas, nes ląstelės gabenamos ant sauso ledo, kad gabenimo metu būtų palaikoma optimali temperatūra.
2. Gavę iš karto laikykite kriovialą žemesnėje nei -150 °C temperatūroje, kad užtikrintumėte ląstelių vientisumo išsaugojimą, arba pereikite prie 3 veiksmo, jei reikia nedelsiant kultivuoti.
3. Jei norite nedelsiant pradėti kultivuoti, greitai atšildykite buteliuką panardindami jį į 37 °C temperatūros vandens vonelę su švariu vandeniu ir antimikrobine priemone, švelniai maišydami 40-60 sekundžių, kol liks nedidelis ledo gabalėlis.
4. Visus tolesnius veiksmus atlikite steriliomis sąlygomis srauto gaubte, prieš atidarydami kriovialą dezinfekuokite jį 70 % etanoliu.
5. Atsargiai atidarykite dezinfekuotą buteliuką ir perpilkite ląstelių suspensiją į 15 ml centrifugos mėgintuvėlį, kuriame yra 8 ml kambario temperatūros mitybinės terpės, atsargiai išmaišykite.
6. Mišinį centrifuguokite 300 x g greičiu 3 minutes, kad atsiskirtų ląstelės, ir atsargiai išmeskite supernatantą su šaldymo terpės likučiais.
7. Švelniai resuspenduokite ląstelių granules 10 ml šviežios mitybinės terpės. Jei ląstelės yra prigludusios, suspensiją padalykite į dvi T25 kolbas; jei tai suspensinės kultūros, visą terpę perkelkite į vieną T25 kolbą, kad paskatintumėte veiksmingą ląstelių sąveiką ir augimą.
8. Laikykitės nustatytų subkultūrų protokolų, kad ląstelių linija nuolat augtų ir būtų palaikoma, taip užtikrinant patikimus eksperimentų rezultatus.

Incubation Atmosphere	37 °C, 5 % $_{CO2}$, drėkintoje atmosferoje.
Flask Coating	Nėra
Freezing Procedure	Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug -78 °C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelkite mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

RWPE-1 ląstelės | 305217

Shipping Conditions	Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug -78 °C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelkite mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.
Storage Conditions	Norėdami ilgai saugoti, įdėkite buteliukus į garų fazės skystą azotą maždaug -150-196 °C temperatūroje. Laikymas -80 °C temperatūroje yra priimtinas tik kaip trumpas tarpinis etapas prieš perkeliant į skystąjį azotą.

Kokybės kontrolė ir molekulinė analizė

Sterility	Mikoplazmos užterštumas atmetamas taikant PGR pagrįstus tyrimus ir liuminescencinius mikoplazmos aptikimo metodus. Siekiant užtikrinti, kad nebūtų užteršimo bakterijomis, grybeliais ar mielėmis, ląstelių kultūros kasdien vizualiai tikrinamos.
STR profilis	**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