

## RWPE-1 šūnas | 305217

## Vispārīga informācija

## Description

RWPE-1 šūnu līnija, kas iegūta no 54 gadus veca baltādaina vīrieša prostatas epitēlija, kuram nav prostatas vēža pazīmju, ir vērtīgs resurss biomedicīniskajos pētījumos, īpaši pētījumos par prostatas bioloģiju un vēzi. Šis epitēlija šūnas, kurām raksturīgas adherences augšanas īpašības un tipiska epitēlija morfoloģija, tika imortalizētas, izmantojot replikācijas deficīta retrovīrusu, kas nes E7 gēnu no cilvēka papilomas vīrusa 18 (HPV-18), kurš inaktivē retinoblastomas proteīnu un veicina šūnu imortalizāciju.

RWPE-1 šūnas, kas iegūtas no normālas cilvēka prostatas, tiek izmantotas prostatas vēža pētījumos, lai gan to androgēnu receptoru ekspresija ir salīdzinoši neliela, īpaši salīdzinājumā ar prostatas vēža tumorigēnām šūnu līnijām. RWPE-1 epitēlija šūnu līnija RWPE-1 ekspresē citokeratīnus 8 un 18, kas apstiprina to epitēlija līniju. Lai gan RWPE-1 šūnas ekspresē tādus audzēja supresorus kā p53 un pRB, kas liecina par to, ka tās nav tumorigēnas, prostatas specifisko marķieru, piemēram, kallikreīna 3 (KLK3) vai PSA, ekspresija standarta kultūras apstākļos parasti ir zema vai tās nav vispār.

3D kultūrās, piemēram, veidotās Matrigel, cilvēka RWPE-1 šūnas var organizēties acināru struktūrās, kas atgādina normālu prostatas arhitektūru. Attiecībā uz PSA (prostatas specifiskā antigēna) sekrēciju, reaģējot uz androgēnu stimulāciju, RWPE-1 šūnas uzrāda mazāk izteiktu reakciju salīdzinājumā ar prostatas vēža šūnu līnijām. Tāpēc RWPE-1 šūnas ir vērtīgs modelis, lai izprastu normālu prostatas epitēlija šūnu pamatīpašības.

Tas, ka RWPE-1 šūnas nav tumorigēnas, kalpo kā modelis, lai pētītu pāreju uz tumorigēnu transformāciju un vēža šūnu dinamiku, tostarp metastātisku prostatas vēža šūnu un prostatas kancerogēnēzi. Tādu faktoru kā EGF un augšanas hormona iekļaušana kultūras apstākļos var vēl vairāk noskaidrot prostatas hiperplāzijā un prostatas vēža progresijā iesaistītos ceļus. Kopumā RWPE-1 šūnas palīdz gūt vispusīgu izpratni par prostatas vēzi, sākot no tā rašanās prostatas šūnu līnijās līdz tā izpausmēm prostatas vēža pacientiem.

**Organism** Cilvēks

**Tissue** Prostatas

**Synonyms** RWPE1

## Raksturojums

**Age** 54 gadi

**Gender** Vīrieši

**Ethnicity** Kaukāzietis

**Morphology** Epitēlija

**Cell type** Prostatas epitēlija šūna

## RWPE-1 šūnas | 305217

**Growth properties** Adherent

**Normatīvie dati**

**Citation** RWPE-1 (Cytion kataloga numurs 305217)

**Biosafety level** RWPE-1 Vācijā klasificē kā 1. vai 2. bioloģiskās drošības līmeni (BSL-1/2) atkarībā no veicamā darba veida. Šūnu līnija ir iegūta no cilvēka prostatas epitēlija šūnām, kas transficētas ar vienu HPV-18 kopiju, un ir negatīva attiecībā uz B hepatītu, C hepatītu un HIV. Vīrusa daļiņu izdalīšanās ir maz ticama, jo HPV-18 replikācijai nepieciešamas diferencētas epitēlija šūnas, un viena genoma kopija parasti neizraisa daļiņu veidošanos. Šāda atbrīvošanās ir teorētiski iespējama tikai 3D kultūrās (piemēram, organotipiskās vai plostu kultūrās), bet ir izslēgta monoslāņa kultūrās. Pilna HPV-18 genoma klātbūtnes dēļ RWPE-1 ir klasificēts kā 2. riska grupas organisms gēnu inženierijas mērķiem.

**NCBI\_TaxID** 9606

**CellosaurusAccession** CVCL\_3791

**Biomolekulārie dati**

**Karyotype** RWPE-1 šūnām ir diploīda hromosomu ploīdija, un tām ir hromosomu variācijas, piemēram, 45, X,-Y un 51, XY.

**Darbs ar**

**Culture Medium** K-SFM (Mēs nepiegādājam šo produktu; lūdzu, apsveriet citus piegādātājus. Lūdzu, informējiet mūs, ja jums nepieciešama papildu palīdzība)

**Supplements** Papildiniet barotni ar 0,05 mg/ml BPE, 5 ng/ml EGF. Barotni nedrīkst pilnībā filtrēt. Pievieno BPE un EGF 10 ml un pēc sterilas filtrēšanas šo maisījumu iekļauj barotnē.

**Dissociation Reagent** Accutase

**Subculturing** Noņem veco barotni no pielipušajām šūnām un mazgāt tās ar PBS, kurā nav kalcija un magnija. T25 kolbām izmantojiet 3-5 ml PBS, bet T75 kolbām - 5-10 ml. Pēc tam pilnībā pārklājiet šūnas ar Accutase, izmantojot 1-2 ml T25 kolbām un 2,5 ml T75 kolbām. Ļaujiet šūnām inkubēties istabas temperatūrā 8-10 minūtes, lai tās atdalītos. Pēc inkubācijas uzmanīgi samaisiet šūnas ar 10 ml barotnes, lai tās atkārtoti suspendētu, pēc tam centrifugējiet 3 minūtes ar 300xg. Izmetiet supernatantu, atkārtoti suspendējiet šūnas svaigā barotnē un pārvietojiet tās jaunās kolbās, kurās jau ir svaigā barotne.

## RWPE-1 šūnas | 305217

### Freeze medium

Kā kriokonservēšanas barotni mēs izmantojam pilnvērtīgu augšanas barotni (ieskaitot FBS) + 10 % DMSO, lai nodrošinātu pietiekamu dzīvotspēju pēc atkausēšanas, vai CM-1 (Cytion kataloga numurs 800100), kas ietver optimizētus osmoprotektorus un metaboliskos stabilizatorus, lai uzlabotu atveseļošanos un samazinātu krioinducēto stresu.

### Thawing and Culturing Cells

1. Pārliecinieties, ka pēc piegādes flakons paliek dziļi sasaldēts, jo šūnas tiek sūtītas uz sausā ledus, lai pārvadāšanas laikā saglabātu optimālu temperatūru.
2. Pēc saņemšanas vai nu nekavējoties uzglabāt kriovialu temperatūrā, kas zemāka par -150 °C, lai nodrošinātu šūnu integritātes saglabāšanu, vai arī turpināt 3. posmu, ja nepieciešama tūlītēja kultivēšana.
3. Tūlītējas kultivēšanas gadījumā ātri atkausējiet flakonu, iegremdējot to 37°C ūdens vannā ar tīru ūdeni un antibakteriālu līdzekli, viegli maisot 40-60 sekundes, līdz paliek neliels ledus gabaliņš.
4. Visas turpmākās darbības veiciet sterilos apstākļos plūsmas nosūcējā, pirms atvēršanas dezinficējot kriovialu ar 70% etanolu.
5. Uzmanīgi atveriet dezinficēto flakonu un pārnesiet šūnu suspensiju 15 ml centrifūgas mēģenē, kurā ir 8 ml istabas temperatūras barotnes, uzmanīgi samaisot.
6. Centrifugējiet maisījumu ar 300 x g 3 minūtes, lai atdalītu šūnas, un uzmanīgi izmetiet virskārtu, kas satur saldēšanas barotnes atlikumus.
7. Viegli resuspendēt šūnu granulas 10 ml svaigas barotnes. Adhēzijas šūnu gadījumā suspensiju sadalīt divās T25 kolbās; suspensijas kultūrām visu barotni pārnest vienā T25 kolbā, lai veicinātu efektīvu šūnu mijiedarbību un augšanu.
8. Ievērojiet noteiktos subkultūru protokolus, lai nodrošinātu nepārtrauktu šūnu līnijas augšanu un uzturēšanu, tādējādi nodrošinot uzticamus eksperimentu rezultātus.

### Incubation Atmosphere

37°C, 5%<sub>CO2</sub>, mitrināta atmosfēra.

### Flask Coating

Optimālai piestiprināšanai un dzīvotspējai pēc atkausēšanas ieteicams izmantot **ar kolagēnu pārklātas kolbas vai plates**.

## RWPE-1 šūnas | 305217

### Freezing Procedure

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidrums daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

### Shipping Conditions

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidrums daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

### Storage Conditions

Ilgstošai uzglabāšanai flakonus ievietojiet šķidrā slāpekļī ar tvaika fāzi aptuveni -150 līdz -196 °C temperatūrā. Uzglabāšana -80 °C temperatūrā ir pieļaujama tikai kā īss starposms pirms pārvietošanas uz šķidro slāpekli.

## Kvalitātes kontrole / Ģenētiskais profils / HLA

### Sterility

Mikoplazmas piesārņojums tiek izslēgts, izmantojot gan uz PCR balstītus testus, gan uz luminiscenci balstītas mikoplazmas noteikšanas metodes.

Lai pārlicinātos, ka nav baktēriju, sēnīšu vai rauga piesārņojuma, šūnu kultūras katru dienu vizuāli pārbauda.