Product sheet

RWPE-1-cellen | 305217

Algemene informatie

Description	De RWPE-1 cellijn, afkomstig van het prostaatepitheel van een 54-jarige blanke man zonder aanwijzingen voor prostaatkanker, is een waardevolle bron voor biomedisch onderzoek, met name voor studies naar prostaatbiologie en -kanker. Deze epitheelcellen, gekenmerkt door hun adhesiegroei-eigenschappen en typische epitheliale morfologie, werden geïmmortaliseerd met behulp van een replicatie-deficiënt retrovirus dat drager is van het E7-gen van humaan papillomavirus 18 (HPV-18), dat het retinoblastoma-eiwit inactiveert en cellulaire immortalisatie bevordert. RWPE-1 cellen, afkomstig van een normale menselijke prostaat, worden gebruikt in prostaatkankeronderzoek, hoewel hun androgeenreceptorexpressie relatief bescheiden is, vooral in vergelijking met tumorigene, van prostaatkanker afgeleide cellijnen. De epitheliale cellijn RWPE-1 brengt cytokeratines 8 en 18 tot expressie, wat hun epitheliale afstamming bevestigt. Hoewel RWPE-1 cellen tumorsuppressoren zoals p53 en pRB tot expressie brengen, wat hun niet-tumorigene aard weerspiegelt, is de expressie van prostaatspecifieke markers zoals Kallikrein 3 (KLK3) of PSA over het algemeen laag of afwezig onder standaard kweekomstandigheden. In 3D-culturen, zoals die gevormd in Matrigel, kunnen menselijke cellen RWPE-1 zich organiseren in acinarstructuren die doen denken aan normale prostaatarchitectuur. Wat betreft de afscheiding van PSA (Prostaat-Specifiek Antigeen) als reactie op androgeenstimulatie, vertonen RWPE-1 cellen een minder uitgesproken reactie in vergelijking met prostaatkankercellijnen. Daarom bieden RWPE-1 cellen een waardevol model voor het begrijpen van de basiseigenschappen van normale prostaatepitheelcellen. De niet-tumorigene aard van RWPE-1 dient als model voor het bestuderen van de overgang naar tumorigene transformatie en de dynamiek van kankercellen, waaronder uitgezaaide prostaatkankercellen en prostaatcarcinogenese. Het opnemen van factoren zoals EGF en groeihormoon in de kweekomstandigheden kan de pathways die betrokken zijn bij prostaathyperplasie en de progressie naar prostaatkanker verder ophelderen. Samengevat vergemakkelijken RWPE-1 cellen een uitgebreid begrip van prostaatkanker, van de initiatie in prostaatcellijnen tot de manifestatie in prostaatkankerpatiënten.
Organism	Mens
Tissue	Prostaat
Synonyms	RWPE1

Kenmerken

Age	54 jaar
Gender	Mannelijk
Ethnicity	Kaukasisch
Morphology	Epitheel

RWPE-1-cellen | 305217

Cell type	Epitheelcel van prostaat
Growth properties	Aanhangend

Regelgevende gegevens

Citation	RWPE-1 (Cytion catalogusnummer 305217)
Biosafety level	RWPE-1 is in Duitsland geclassificeerd als bioveiligheidsniveau 1 of 2 (BSL-1/2), afhankelijk van het type werk dat wordt uitgevoerd. De cellijn is afkomstig van menselijke prostaatepitheelcellen getransfecteerd met een enkele kopie van HPV-18 en is negatief voor hepatitis B, hepatitis C en hiv. Het vrijkomen van virale partikels is onwaarschijnlijk, aangezien HPV-18 gedifferentieerde epitheelcellen nodig heeft voor replicatie en een enkele genoomkopie gewoonlijk niet leidt tot partikelvorming. Een dergelijk vrijkomen is alleen theoretisch mogelijk in 3D-culturen (bv. organotypische culturen of raftculturen), maar is uitgesloten in monolaagculturen. Door de aanwezigheid van het volledige HPV-18 genoom wordt RWPE-1 gecategoriseerd als een risicogroep 2 organisme voor gentechnologische doeleinden.
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_3791

Biomoleculaire gegevens

Karyotype	RWPE-1 cellen hebben een diploïde chromosomale ploïdie en vertonen chromosomale variaties zoals 45, X,-Y en 51, XY.

Omgaan met

Culture Medium	K-SFM (Wij leveren dit product niet; overweeg andere leveranciers. Laat het ons weten als u meer hulp nodig hebt)
Supplements	Vul het medium aan met 0,05 mg/mL BPE, 5 ng/mL EGF. Het medium mag niet volledig gefilterd worden. Voeg BPE en EGF toe tot 10 ml en voeg dit mengsel na steriel filteren toe aan het medium.
Dissociation Reagent	Accutase

RWPE-1-cellen | 305217

Subculturing	Verwijder het oude medium van de adherente cellen en was ze met PBS zonder calcium en magnesium. Gebruik voor T25-flesjes 3-5 ml PBS en voor T75-flesjes 5-10 ml. Bedek de cellen vervolgens volledig met Accutase, met 1-2 ml voor T25-flesjes en 2,5 ml voor T75-flesjes. Laat de cellen gedurende 8-10 minuten bij kamertemperatuur incuberen om ze los te maken. Na incubatie de cellen voorzichtig mengen met 10 ml medium om ze te resuspenderen en vervolgens centrifugeren bij 300xg gedurende 3 minuten. Gooi het supernatant weg, resuspendeer de cellen in vers medium en breng ze over in nieuwe kolven die al vers medium bevatten.
Freeze medium	Als cryoconserveringsmedium gebruiken we volledig groeimedium (inclusief FBS) + 10% DMSO voor voldoende levensvatbaarheid na het ontdooien, of CM-1 (Cytion catalogusnummer 800100), dat geoptimaliseerde osmoprotectanten en metabolische stabilisatoren bevat om het herstel te verbeteren en door cryo geïnduceerde stress te verminderen.

Thawing and Culturing Cells

1. Controleer of de flacon bij levering diepgevroren blijft, aangezien de cellen op droog ijs worden verzonden om optimale temperaturen tijdens het transport te behouden.
2. Bewaar het cryoflesje na ontvangst onmiddellijk bij temperaturen lager dan -150 °C om de integriteit van de cellen te behouden, of ga verder met stap 3 als onmiddellijke kweek vereist is.
3. Voor onmiddellijke kweek: ontdooi de flacon snel door deze onder te dompelen in een waterbad van 37 °C met schoon water en een antimicrobieel middel, waarbij u 40-60 seconden zachtjes schudt totdat er een klein ijsklontje overblijft.
4. Voer alle volgende stappen uit onder steriele omstandigheden in een stromingskap en desinfecteer de cryoflacon met 70% ethanol voordat deze wordt geopend.
5. Open voorzichtig de gedesinfecteerde flacon en breng de celsuspensie over in een centrifugebuis van 15 ml met 8 ml kweekmedium op kamertemperatuur en meng voorzichtig.
6. Centrifugeer het mengsel gedurende 3 minuten bij 300 x g om de cellen te scheiden en gooi het supernatant met resterend vriesmedium voorzichtig weg.
7. Resuspendeer de celpellet voorzichtig in 10 ml vers kweekmedium. Verdeel voor adherente cellen de suspensie over twee T25-kweekkolven; breng voor suspensiekweken al het medium over in één T25-kweekkolf om effectieve celinteractie en -groei te bevorderen.
8. Houd u aan de vastgestelde subcultuurprotocollen voor continue groei en onderhoud van de cellijn, om betrouwbare experimentele resultaten te garanderen.

Incubation Atmosphere	37°C, 5%$_{CO2}$, bevochtigde atmosfeer.
Flask Coating	Geen

RWPE-1-cellen | 305217

Freezing Procedure	Gecryopreserveerde cellijnen worden verzonden op droog ijs in gevalideerde, geïsoleerde verpakkingen met voldoende koelmiddel om gedurende het transport ongeveer -78 °C te handhaven. Inspecteer de verpakking onmiddellijk na ontvangst en breng de flacons onverwijld over naar de juiste opslagplaats.
Shipping Conditions	Gecryopreserveerde cellijnen worden verzonden op droog ijs in gevalideerde, geïsoleerde verpakkingen met voldoende koelmiddel om gedurende het transport ongeveer -78 °C te handhaven. Inspecteer de verpakking onmiddellijk na ontvangst en breng de flacons onverwijld over naar de juiste opslagplaats.
Storage Conditions	Voor langdurige bewaring plaatst u flesjes in vloeibare stikstof in dampfase bij ongeveer -150 tot -196 °C. Opslag bij -80 °C is alleen aanvaardbaar als korte tussenstap vóór overbrenging naar vloeibare stikstof.

Kwaliteitscontrole en moleculaire analyse

Sterility	Mycoplasmaverontreiniging wordt uitgesloten met zowel PCR-gebaseerde testen als op luminescentie gebaseerde mycoplasmadetectiemethoden. Om er zeker van te zijn dat er geen besmetting is met bacteriën, schimmels of gisten, worden de celculturen dagelijks onderworpen aan visuele inspecties.
STR profiel	**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