

RWPE-1-celler | 305217

Generell informasjon

Description

RWPE-1-cellelinjen, som stammer fra prostataepitelet til en 54 år gammel kaukasisk mann uten tegn på prostatakraft, er en verdifull ressurs i biomedisinsk forskning, særlig for studier av prostatabiologi og -kreft. Disse epitelcellene, som kjennetegnes ved sine adherente vekstegenskaper og typiske epitel morfologi, ble uoddeliggjort ved hjelp av et replikasjonsdefekt retrovirus som bærer E7-genet fra humant papillomavirus 18 (HPV-18), som inaktiverer retinoblastomproteinet og fremmer cellulær uoddeliggjøring.

RWPE-1-celler, som stammer fra en normal human prostata, brukes i forskning på prostatakraft, selv om deres androgenreseptoruttrykk er relativt beskjedent, særlig sammenlignet med svulstfremkallende cellelinjer som stammer fra prostatakraft. Den epiteliale cellelinjen RWPE-1 uttrykker cytokeratin 8 og 18, noe som bekrefter deres epiteliale avstamning. RWPE-1-celler uttrykker tumorundertrykkere som p53 og pRB, noe som gjenspeiler at de ikke er tumorogene, men uttrykket av prostataspesifikke markører som Kallikrein 3 (KLK3) eller PSA er generelt lavt eller fraværende under standard dyrkingsforhold.

I 3D-kulturer, for eksempel i Matrigel, kan humane RWPE-1-celler organisere seg i akinære strukturer som minner om normal prostataarkitektur. Når det gjelder utskillelsen av PSA (prostataspesifikt antigen) som respons på androgenstimulering, viser RWPE-1-celler en mindre uttalt reaksjon sammenlignet med prostatakraftcellelinjer. RWPE-1-celler er derfor en verdifull modell for å forstå de grunnleggende egenskapene til normale prostataepitelceller.

RWPE-1s ikke-tumorogene natur fungerer som en modell for å studere overgangen til tumorigen transformasjon og dynamikken i kreftceller, inkludert metastatiske prostatakraftceller og prostatakarsinogenese. Ved å inkludere faktorer som EGF og veksthormon i dyrkingsforholdene kan man ytterligere belyse hvilke veier som er involvert i prostatahyperplasi og utviklingen mot prostatakraft. RWPE-1-celler gjør det mulig å få en helhetlig forståelse av prostatakraft, fra den oppstår i prostatacellelinjer til den manifesterer seg hos prostatakraftpasienter.

Organism Menneskelig

Tissue Prostata

Synonyms RWPE1

Kjennetegn

Age 54 år

Gender Mann

Ethnicity Kaukasisk

Morphology Epitelial

Cell type Epitelcelle i prostata

RWPE-1-celler | 305217

Growth properties Vedhengende

Regulatoriske data

Citation RWPE-1 (Cytion katalognummer 305217)

Biosafety level RWPE-1 er klassifisert som biosikkerhetsnivå 1 eller 2 (BSL-1/2) i Tyskland, avhengig av hvilken type arbeid som utføres. Cellelinjen stammer fra humane prostataepitelceller transfektert med en enkelt kopi av HPV-18, og er negativ for hepatitt B, hepatitt C og HIV. Viruspartikkelfrigjøring er usannsynlig, ettersom HPV-18 krever differensierte epitelceller for replikasjon, og en enkelt genomkopi fører vanligvis ikke til partikkeldannelse. Slik frigjøring er bare teoretisk mulig i 3D-kulturer (f.eks. organotypiske kulturer eller raftkulturer), men er utelukket i monolagskulturer. På grunn av tilstedeværelsen av hele HPV-18-genomet er RWPE-1 kategorisert som en risikogruppe 2-organisme for genteknologiske formål.

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_3791

Biomolekylære data

Karyotype RWPE-1-celler har diploid kromosomploidi, og viser kromosomvariasjoner som 45, X,-Y og 51, XY.

Håndtering

Culture Medium K-SFM (Vi leverer ikke dette produktet; vennligst vurder andre leverandører. Vennligst gi oss beskjed hvis du trenger ytterligere hjelp)

Supplements Suppler mediet med 0,05 mg/mL BPE, 5 ng/mL EGF. Mediet skal ikke filtreres helt. Tilsett BPE og EGF til 10 mL, og inkorporer denne blandingen i mediet etter steril filtrering.

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Fjern det gamle mediet fra de adherente cellene, og vask dem med PBS uten kalsium og magnesium. Bruk 3-5 ml PBS for T25-kolber og 5-10 ml for T75-kolber. Dekk deretter cellene helt med Accutase, med 1-2 ml for T25-kolber og 2,5 ml for T75-kolber. La cellene inkubere i romtemperatur i 8-10 minutter for å løsne dem. Etter inkubasjon blandes cellene forsiktig med 10 ml medium for å resuspendere dem, og sentrifuger deretter ved 300xg i 3 minutter. Kast supernatanten, resuspend cellene i nytt medium, og overfør dem til nye kolber som allerede inneholder nytt medium.

RWPE-1-celler | 305217

Freeze medium

Som kryopreserveringsmedium bruker vi komplett vekstmedium (inkludert FBS) + 10 % DMSO for tilstrekkelig levedyktighet etter opptining, eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som inneholder optimaliserte osmobeskyttende midler og metabolske stabilisatorer for å øke utvinningen og redusere kryoindusert stress.

Thawing and Culturing Cells

1. Kontroller at hetteglasset er dypfryst ved levering, ettersom cellene sendes på tørris for å opprettholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved mottak skal hetteglasset enten oppbevares umiddelbart ved temperaturer under $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ for å sikre at cellenes integritet bevares, eller gå videre til trinn 3 hvis umiddelbar dyrking er nødvendig.
3. Ved umiddelbar dyrking tiner du hetteglasset raskt ved å senke det ned i et $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ varmt vannbad med rent vann og et antimikrobielt middel, og røre forsiktig i 40-60 sekunder til det blir en liten isklump igjen.
4. Utfør alle påfølgende trinn under sterile forhold i en strømningshette, og desinfiser kryoflasken med 70 % etanol før du åpner den.
5. Åpne det desinfiserte hetteglasset forsiktig, og overfør cellesuspensjonen til et 15 ml sentrifugerør som inneholder 8 ml romtemperert dyrkingsmedium, og bland forsiktig.
6. Sentrifuger blandingen ved $300 \times g$ i 3 minutter for å separere cellene, og kast supernatanten som inneholder rester av frysemedium, forsiktig.
7. Resuspender cellepelletten forsiktig i 10 ml nytt dyrkningsmedium. For adherente celler, del suspensjonen mellom to T25-kulturkolber; for suspensjonskulturer, overfør alt mediet til én T25-kolbe for å fremme effektiv celleinteraksjon og vekst.
8. Følg etablerte subkulturprotokoller for fortsatt vekst og vedlikehold av cellelinjen, noe som sikrer pålitelige eksperimentelle resultater.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5 % CO_2 , befuktet atmosfære.

Flask Coating

Ingen

Freezing Procedure

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca. $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

RWPE-1-celler | 305217

Shipping Conditions

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca. -78 °C under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

Storage Conditions

For langtidsoppbevaring plasseres hetteglassene i flytende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Lagring ved -80 °C er kun akseptabelt som et kort mellomtrinn før overføring til flytende nitrogen.

Kvalitetskontroll / Genetisk profil / HLA

Sterility

Mykoplasma-kontaminering utelukkes ved hjelp av både PCR-baserte analyser og luminescensbaserte metoder for påvisning av mykoplasma.

For å sikre at det ikke finnes bakterie-, sopp- eller gjærkontaminering, blir cellekulturene inspisert visuelt hver dag.

STR-profil

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