Product sheet

RWPE-1-celler | 305217

Generell informasjon

Description	RWPE-1-cellelinjen, som stammer fra prostataepitelet til en 54 år gammel kaukasisk mann uten tegn på prostatakreft, er en verdifull ressurs i biomedisinsk forskning, særlig for studier av prostatabiologi og -kreft. Disse epitelcellene, som kjennetegnes ved sine adherente vekstegenskaper og typiske epitelmorfologi, ble udødeliggjort ved hjelp av et replikasjonsdefekt retrovirus som bærer E7-genet fra humant papillomavirus 18 (HPV-18), som inaktiverer retinoblastomproteinet og fremmer cellulær udødeliggjøring. RWPE-1-celler, som stammer fra en normal human prostata, brukes i forskning på prostatakreft, selv om deres androgenreseptoruttrykk er relativt beskjedent, særlig sammenlignet med svulstfremkallende cellelinjer som stammer fra prostatakreft. 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 prostatakreftcellelinjer. RWPE-1-celler er derfor en verdifull modell for å forstå de grunnleggende egenskapene til normale prostatapepitelceller. RWPE-1s ikke-tumorogene natur fungerer som en modell for å studere overgangen til tumorigen transformasjon og dynamikken i kreftceller, inkludert metastatiske prostatakreftceller 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 prostatakreft. RWPE-1-celler gjør det mulig å få en helhetlig forståelse av prostatakreft, fra den oppstår i prostatacellelinjer til den manifesterer seg hos prostatakreftpasienter.
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, resuspender 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 °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 °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 x g i 3 minutter for å separere cellene, og kast supernatanten som inneholder rester av frysemedium, forsiktig.
7. Resuspender cellepelleten 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 °C, 5 % $_{CO2}$, 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 °C under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

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 og molekylær analyse

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