

Komórki RWPE-1 | 305217**Informacje ogólne****Description**

Linia komórkowa RWPE-1, pochodząca z nabłonka prostaty 54-letniego mężczyzny rasy kaukaskiej bez dowodów na raka prostaty, jest cennym zasobem w badaniach biomedycznych, szczególnie w badaniach nad biologią i rakiem prostaty. Te komórki nabłonkowe, charakteryzujące się właściwościami wzrostu przylegania i typową morfologią nabłonka, zostały unieśmiertelnione przy użyciu retrowirusa z niedoborem replikacji, który przenosi gen E7 z wirusa brodawczaka ludzkiego 18 (HPV-18), który inaktywuje białko retinoblastoma i promuje unieśmiertelnianie komórek.

Komórki RWPE-1, pochodzące z normalnej ludzkiej prostaty, są wykorzystywane w badaniach nad rakiem prostaty, chociaż ich ekspresja receptora androgenowego jest stosunkowo niewielka, zwłaszcza w porównaniu z nowotworowymi liniami komórkowymi pochodzącymi z raka prostaty. Linia komórek nabłonkowych RWPE-1 wykazuje ekspresję cytokeratyn 8 i 18, które potwierdzają ich nabłonkowy rodowód. Podczas gdy komórki RWPE-1 wykazują ekspresję supresorów nowotworowych, takich jak p53 i pRB, co odzwierciedla ich nienowotworowy charakter, ekspresja markerów specyficznych dla prostaty, takich jak kallikreina 3 (KLK3) lub PSA, jest ogólnie niska lub nieobecna w standardowych warunkach hodowli.

W hodowlach 3D, takich jak te utworzone w Matrigelu, ludzkie komórki RWPE-1 mogą organizować się w struktury przypominające normalną architekturę prostaty. Jeśli chodzi o wydzielanie PSA (antygeny specyficznego dla prostaty) w odpowiedzi na stymulację androgenami, komórki RWPE-1 wykazują mniej wyraźną reakcję w porównaniu z liniami komórkowymi raka prostaty. Dlatego też komórki RWPE-1 stanowią cenny model do zrozumienia podstawowych właściwości normalnych komórek nabłonka prostaty.

Nienowotworowy charakter RWPE-1 służy jako model do badania przejścia do transformacji nowotworowej i dynamiki komórek nowotworowych, w tym komórek raka prostaty z przerzutami i kancerogenezy prostaty. Włączenie czynników takich jak EGF i hormon wzrostu do warunków hodowli może dodatkowo wyjaśnić szlaki zaangażowane w przerost gruczołu krokowego i progresję w kierunku raka prostaty. Podsumowując, komórki RWPE-1 ułatwiają kompleksowe zrozumienie raka prostaty, od jego inicjacji w liniach komórkowych prostaty do jego manifestacji u pacjentów z rakiem prostaty.

Organism Człowiek**Tissue** Prostata**Synonyms** RWPE1**Charakterystyka****Age** 54 lata**Gender** Mężczyzna**Ethnicity** Kaukaski**Morphology** Nabłonek

Komórki RWPE-1 | 305217**Cell type** Komórka nabłonkowa prostaty**Growth properties** Adherent**Dane regulacyjne****Citation** RWPE-1 (numer katalogowy Cytion 305217)**Biosafety level** RWPE-1 jest sklasyfikowany jako poziom bezpieczeństwa biologicznego 1 lub 2 (BSL-1/2) w Niemczech, w zależności od rodzaju prowadzonych prac. Linia komórkowa pochodzi z ludzkich komórek nabłonka prostaty transfekowanych pojedynczą kopią wirusa HPV-18 i jest negatywna dla wirusów zapalenia wątroby typu B, zapalenia wątroby typu C i HIV. Uwolnienie cząstek wirusa jest mało prawdopodobne, ponieważ HPV-18 wymaga zróżnicowanych komórek nabłonkowych do replikacji, a pojedyncza kopia genomu zazwyczaj nie prowadzi do tworzenia cząstek. Takie uwalnianie jest teoretycznie możliwe tylko w hodowlach 3D (np. organotypowych lub raftowych), ale jest wykluczone w hodowlach jednowarstwowych. Ze względu na obecność pełnego genomu HPV-18, RWPE-1 jest klasyfikowany jako organizm grupy ryzyka 2 do celów inżynierii genetycznej.**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_3791**Dane biomolekularne****Karyotype** Komórki RWPE-1 mają diploidalną chromosomalną ploidalność i wykazują warianty chromosomalne, takie jak 45, X,-Y i 51, XY.**Obsługa****Culture Medium** K-SFM (Nie dostarczamy tego produktu; prosimy o rozważenie innych dostawców. Daj nam znać, jeśli potrzebujesz dalszej pomocy)**Supplements** Uzupelnic pożywkę 0,05 mg/ml BPE, 5 ng/ml EGF. Pożywka nie powinna być całkowicie przefiltrowana. Dodaj BPE i EGF do 10 ml i po sterylnym przefiltrowaniu dodaj tę mieszaninę do pożywki.**Dissociation Reagent** Accutase

Komórki RWPE-1 | 305217**Subculturing**

Usuń starą pożywkę z przylegających komórek i przemyj je PBS, który nie zawiera wapnia i magnezu. W przypadku kolb T25 należy użyć 3-5 ml PBS, a w przypadku kolb T75 5-10 ml. Następnie całkowicie pokryj komórki Accutase, używając 1-2 ml dla kolb T25 i 2,5 ml dla kolb T75. Pozwól komórkom inkubować w temperaturze pokojowej przez 8-10 minut, aby je oddzielić. Po inkubacji delikatnie wymieszaj komórki z 10 ml pożywki, aby ponownie je zawiesić, a następnie odwiruj przy 300xg przez 3 minuty. Odrzuć supernatant, ponownie zawiesić komórki w świeżej pożywce i przenieść je do nowych kolb zawierających już świeżą pożywkę.

Freeze medium

Jako pożywki do kriokonserwacji używamy kompletnej pożywki wzrostowej (w tym FBS) + 10% DMSO w celu zapewnienia odpowiedniej żywotności po rozmrożeniu lub CM-1 (numer katalogowy Cytion 800100), która zawiera zoptymalizowane osmoprotektanty i stabilizatory metaboliczne w celu zwiększenia regeneracji i zmniejszenia stresu wywołanego kriokonserwacją.

Thawing and Culturing Cells

1. Upewnij się, że fiolka pozostaje głęboko zamrożona w momencie dostawy, ponieważ komórki są wysyłane w suchym lodzie, aby utrzymać optymalną temperaturę podczas transportu.
2. Po otrzymaniu należy natychmiast przechowywać fiolkę w temperaturze poniżej -150°C , aby zapewnić zachowanie integralności komórek, lub przejść do kroku 3, jeśli wymagana jest natychmiastowa hodowla.
3. W przypadku natychmiastowej hodowli należy szybko rozmrozić fiolkę, zanurzając ją w łaźni wodnej o temperaturze 37°C z czystą wodą i środkiem przeciwdrobnoustrojowym, delikatnie mieszając przez 40-60 sekund, aż pozostanie niewielka grudka lodu.
4. Wykonaj wszystkie kolejne kroki w sterylnych warunkach w kapturze przepływowej, dezynfekując fiolkę 70% etanolem przed otwarciem.
5. Ostrożnie otwórz zdezynfekowaną fiolkę i przenieść zawiesinę komórek do 15 ml probówki wirówkowej zawierającej 8 ml podłoża hodowlanego o temperaturze pokojowej, delikatnie mieszając.
6. Wirować mieszaninę z prędkością 300 x g przez 3 minuty w celu oddzielenia komórek i ostrożnie odrzucić supernatant zawierający pozostałości pożywki do zamrażania.
7. Delikatnie ponownie zawiesić osad komórek w 10 ml świeżego podłoża hodowlanego. W przypadku komórek przylegających, rozdzielić zawiesinę pomiędzy dwie kolby hodowlane T25; w przypadku hodowli zawiesinowych, przenieść całą pożywkę do jednej kolby T25 w celu promowania skutecznej interakcji i wzrostu komórek.
8. Przestrzegaj ustalonych protokołów podhodowli w celu ciągłego wzrostu i utrzymania linii komórkowej, zapewniając wiarygodne wyniki eksperymentów.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , nawilżona atmosfera.

Komórki RWPE-1 | 305217**Flask Coating**

W celu zapewnienia optymalnego przylegania i żywotności po rozmrożeniu zalecamy stosowanie **kolb lub płytek pokrytych kolagenem**.

Freezing Procedure

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Shipping Conditions

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Storage Conditions

W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiolki w ciekłym azocie w fazie lotnej w temperaturze od -150 do -196 °C. Przechowywanie w temperaturze -80 °C jest dopuszczalne tylko jako krótki etap przejściowy przed przeniesieniem do ciekłego azotu.

Kontrola jakości / Profil genetyczny / HLA**Sterility**

Zanieczyszczenie mykoplazmą jest wykluczone przy użyciu zarówno testów opartych na PCR, jak i metod wykrywania mykoplazmy opartych na luminescencji.

Aby upewnić się, że nie ma zanieczyszczenia bakteriami, grzybami lub drożdżami, hodowle komórkowe są poddawane codziennym kontrolom wizualnym.

Profil STR

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