Product sheet

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 (antygenu 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

Product sheet

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	Uzupełnić 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. Odrzucić 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 przepływowym, dezynfekując fiolkę 70% etanolem przed otwarciem.
5. Ostrożnie otworzyć 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%$_{CO2}$, nawilżona atmosfera.

Komórki RWPE-1 | 305217

Flask Coating	Brak
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 i analiza molekularna

Sterility	Zanieczyszczenie mykoplazmą jest wykluczane 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