Product sheet

Células RWPE-1 | 305217

Informações gerais

Description	A linha de células RWPE-1, derivada do epitélio da próstata de um homem caucasiano de 54 anos sem evidência de cancro da próstata, é um recurso valioso na investigação biomédica, particularmente para estudos sobre a biologia e o cancro da próstata. Estas células epiteliais, caracterizadas pelas suas propriedades de crescimento aderente e morfologia epitelial típica, foram imortalizadas utilizando um retrovírus com deficiência de replicação que transporta o gene E7 do papilomavírus humano 18 (HPV-18), que inativa a proteína retinoblastoma e promove a imortalização celular. As células RWPE-1, provenientes de uma próstata humana normal, são utilizadas na investigação do cancro da próstata, embora a sua expressão do recetor de androgénio seja relativamente modesta, especialmente quando comparada com as linhas celulares tumorigénicas derivadas do cancro da próstata. A linha celular epitelial RWPE-1 exprime citoqueratinas 8 e 18, que confirmam a sua linhagem epitelial. Embora as células RWPE-1 expressem supressores de tumores como o p53 e o pRB, o que reflecte a sua natureza não tumorigénica, a expressão de marcadores específicos da próstata, como a calicreína 3 (KLK3) ou o PSA, é geralmente baixa ou ausente em condições de cultura normais. Em culturas 3D, como as formadas em Matrigel, as células humanas RWPE-1 podem organizar-se em estruturas acinares que lembram a arquitetura normal da próstata. No que diz respeito à secreção de PSA (antigénio específico da próstata) em resposta à estimulação androgénica, as células RWPE-1 apresentam uma reação menos pronunciada do que as linhas celulares de cancro da próstata. Por conseguinte, as células RWPE-1 constituem um modelo valioso para compreender as propriedades de base das células epiteliais normais da próstata. A natureza não tumorigénica da RWPE-1 serve de modelo para estudar a transição para a transformação tumorigénica e a dinâmica das células cancerígenas, incluindo as células metastáticas do cancro da próstata e a carcinogénese da próstata. A inclusão de factores como o EGF e a hormona de crescimento nas condições de cultura pode elucidar melhor as vias envolvidas na hiperplasia prostática e na progressão para o cancro da próstata. Em resumo, as células RWPE-1 facilitam uma compreensão abrangente do cancro da próstata, desde o seu início em linhas celulares prostáticas até à sua manifestação em doentes com cancro da próstata.
Organism	Humano
Tissue	Próstata
Synonyms	RWPE1

Caraterísticas

Age	54 anos
Gender	Masculino
Ethnicity	Caucasiano

Product sheet

Células RWPE-1 | 305217

Morphology	Epitelial
Cell type	Célula epitelial da próstata
Growth properties	Aderente

Dados regulamentares

Citation	RWPE-1 (número de catálogo Cytion 305217)
Biosafety level	A RWPE-1 está classificada como Nível de Biossegurança 1 ou 2 (BSL-1/2) na Alemanha, dependendo do tipo de trabalho efectuado. A linha celular tem origem em células epiteliais da próstata humana transfectadas com uma única cópia do HPV-18 e é negativa para a hepatite B, a hepatite C e o VIH. A libertação de partículas virais é improvável, uma vez que o HPV-18 requer células epiteliais diferenciadas para a sua replicação e uma única cópia do genoma não conduz normalmente à formação de partículas. Essa libertação só é teoricamente possível em culturas 3D (por exemplo, culturas organotípicas ou em jangada), mas é excluída em culturas em monocamada. Devido à presença do genoma completo do HPV-18, o RWPE-1 é classificado como um organismo do Grupo de Risco 2 para efeitos de engenharia genética.
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_3791

Dados biomoleculares

Karyotype	As células RWPE-1 têm uma ploidia cromossómica diploide e apresentam variações cromossómicas como 45, X,-Y, e 51, XY.

Manuseamento

Culture Medium	K-SFM (Não fornecemos este produto; considere outros fornecedores. Por favor, informe-nos se precisar de mais assistência)
Supplements	Suplementar o meio com 0,05 mg/mL de BPE, 5 ng/mL de EGF. O meio não deve ser totalmente filtrado. Adicionar BPE e EGF a 10 mL e, após filtragem estéril, incorporar esta mistura no meio.
Dissociation Reagent	Accutase

Células RWPE-1 | 305217

Subculturing	Retirar o meio antigo das células aderentes e lavá-las com PBS sem cálcio e magnésio. Nos frascos T25, utilizar 3-5 ml de PBS e nos frascos T75, 5-10 ml. Em seguida, cobrir completamente as células com Accutase, utilizando 1-2 ml para os frascos T25 e 2,5 ml para os frascos T75. Deixar as células incubar à temperatura ambiente durante 8-10 minutos para as destacar. Após a incubação, misturar suavemente as células com 10 ml de meio para as ressuspender e, em seguida, centrifugar a 300xg durante 3 minutos. Deitar fora o sobrenadante, ressuspender as células em meio fresco e transferi-las para novos frascos que já contenham meio fresco.
Freeze medium	Como meio de criopreservação, utilizamos um meio de crescimento completo (incluindo FBS) + 10% DMSO para uma viabilidade pós-descongelamento adequada, ou CM-1 (número de catálogo Cytion 800100), que inclui osmoprotectores optimizados e estabilizadores metabólicos para melhorar a recuperação e reduzir o stress induzido pela crio.

Thawing and Culturing Cells

1. Confirme que o frasco permanece profundamente congelado aquando da entrega, uma vez que as células são enviadas em gelo seco para manter as temperaturas ideais durante o transporte.
2. Após a receção, armazenar o frasco criogénico imediatamente a temperaturas inferiores a -150°C para garantir a preservação da integridade celular, ou avançar para o passo 3 se for necessária uma cultura imediata.
3. Para uma cultura imediata, descongelar rapidamente o frasco imergindo-o num banho de água a 37°C com água limpa e um agente antimicrobiano, agitando suavemente durante 40-60 segundos até ficar um pequeno aglomerado de gelo.
4. Efetuar todos os passos subsequentes em condições estéreis numa capela de fluxo, desinfectando o frasco criogénico com etanol a 70% antes de o abrir.
5. Abrir cuidadosamente o frasco desinfectado e transferir a suspensão de células para um tubo de centrifugação de 15 ml contendo 8 ml de meio de cultura à temperatura ambiente, misturando suavemente.
6. Centrifugar a mistura a 300 x g durante 3 minutos para separar as células e eliminar cuidadosamente o sobrenadante que contém o meio de congelação residual.
7. Ressuspender suavemente o pellet de células em 10 ml de meio de cultura fresco. No caso de células aderentes, dividir a suspensão entre dois frascos de cultura T25; no caso de culturas em suspensão, transferir todo o meio para um frasco T25 para promover uma interação e um crescimento eficazes das células.
8. Cumprir os protocolos de subcultura estabelecidos para o crescimento e manutenção contínuos da linha celular, garantindo resultados experimentais fiáveis.

Incubation Atmosphere	37°C, 5%$_{CO2}$, atmosfera humidificada.

Células RWPE-1 | 305217

Flask Coating	Nenhum
Freezing Procedure	As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente -78 °C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.
Shipping Conditions	As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente -78 °C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.
Storage Conditions	Para conservação a longo prazo, colocar os frascos em azoto líquido em fase de vapor a uma temperatura entre -150 e -196 °C. O armazenamento a -80 °C é aceitável apenas como um curto passo intermédio antes da transferência para azoto líquido.

Controlo de Qualidade e Análise Molecular

Sterility	A contaminação por micoplasma é excluída utilizando ensaios baseados em PCR e métodos de deteção de micoplasma baseados em luminescência. Para garantir que não há contaminação bacteriana, fúngica ou de leveduras, as culturas de células são sujeitas a inspecções visuais diárias.
Perfil STR	**Amelogenin**: x, y **CSF1PO**: 13 **D13S317**: 8,14 **D16S539**: 9,11 **D5S818**: 12h15 **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