Product sheet

Celule RWPE-1 | 305217

Informații generale

Description	Linia celulară RWPE-1, derivată din epiteliul prostatic al unui bărbat caucazian în vârstă de 54 de ani, fără semne de cancer de prostată, este o resursă valoroasă în cercetarea biomedicală, în special pentru studiile privind biologia și cancerul de prostată. Aceste celule epiteliale, caracterizate prin proprietăți de creștere prin aderență și morfologie epitelială tipică, au fost imortalizate cu ajutorul unui retrovirus cu replicare deficitară care poartă gena E7 din papilomavirusul uman 18 (HPV-18), care inactivează proteina retinoblastomului și promovează imortalizarea celulară. Celulele RWPE-1, provenite dintr-o prostată umană normală, sunt utilizate în cercetarea cancerului de prostată, deși expresia receptorului androgen este relativ modestă, în special în comparație cu liniile celulare tumorigene derivate din cancerul de prostată. Linia celulară epitelială RWPE-1 exprimă citokeratinele 8 și 18, ceea ce confirmă linia lor epitelială. În timp ce celulele RWPE-1 exprimă supresori tumorali precum p53 și pRB, reflectând natura lor netumorigenă, expresia markerilor specifici prostatei precum Kallikrein 3 (KLK3) sau PSA este în general scăzută sau absentă în condiții standard de cultură. În culturi 3D, cum ar fi cele formate în Matrigel, celulele umane RWPE-1 se pot organiza în structuri acinare care amintesc de arhitectura normală a prostatei. În ceea ce privește secreția de PSA (antigen specific prostatei) ca răspuns la stimularea androgenică, celulele RWPE-1 prezintă o reacție mai puțin pronunțată în comparație cu liniile celulare de cancer de prostată. Prin urmare, deși celulele RWPE-1 oferă un model valoros pentru înțelegerea proprietăților de bază ale celulelor epiteliale normale ale prostatei. Natura non-tumorigenă a RWPE-1 servește drept model pentru studierea tranziției către transformarea tumorigenă și dinamica celulelor canceroase, inclusiv celulele metastatice ale cancerului de prostată și carcinogeneza prostatei. Includerea unor factori precum EGF și hormonul de creștere în condițiile de cultură poate elucida în continuare căile implicate în hiperplazia prostatică și evoluția către cancerul de prostată. În rezumat, celulele RWPE-1 facilitează o înțelegere cuprinzătoare a cancerului de prostată, de la inițierea acestuia în liniile celulare prostatice până la manifestarea sa la pacienții cu cancer de prostată.
Organism	Om
Tissue	Prostată
Synonyms	RWPE1

Caracteristici

Age	54 de ani
Gender	Masculin
Ethnicity	Caucazian
Morphology	Epitelial

Celule RWPE-1 | 305217

Cell type	Celulă epitelială a prostatei
Growth properties	Aderent

Date de reglementare

Citation	RWPE-1 (număr de catalog Cytion 305217)
Biosafety level	În Germania, RWPE-1 este clasificată la nivelul de biosecuritate 1 sau 2 (BSL-1/2), în funcţie de tipul de activitate desfăşurată. Linia celulară provine din celule epiteliale de prostată umană transfectate cu o singură copie de HPV-18 şi este negativă pentru hepatita B, hepatita C şi HIV. Eliberarea de particule virale este puţin probabilă, deoarece HPV-18 necesită celule epiteliale diferenţiate pentru replicare, iar o singură copie a genomului nu duce de obicei la formarea de particule. O astfel de eliberare este posibilă doar teoretic în culturile 3D (de exemplu, culturile organotipice sau rafturile), dar este exclusă în culturile monocelulare. Datorită prezenţei genomului HPV-18 complet, RWPE-1 este clasificat ca organism din grupa de risc 2 în scopuri de inginerie genetică.
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_3791

Date biomoleculare

Karyotype	Celulele RWPE-1 au o plozie cromozomială diploidă şi prezintă variaţii cromozomiale precum 45, X,-Y şi 51, XY.

Manipulare

Culture Medium	K-SFM (Nu furnizăm acest produs; vă rugăm să luaţi în considerare alţi furnizori. Vă rugăm să ne anunţaţi dacă aveţi nevoie de asistenţă suplimentară)
Supplements	Suplimentaţi mediul cu 0,05 mg/mL BPE, 5 ng/mL EGF. Mediul nu trebuie să fie filtrat în întregime. Adăugaţi BPE şi EGF la 10 ml şi, după filtrarea sterilă, încorporaţi acest amestec în mediu.
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Îndepărtaţi mediul vechi de pe celulele aderente şi spălaţi-le cu PBS care nu conţine calciu şi magneziu. Pentru flacoanele T25, se utilizează 3-5 ml de PBS, iar pentru flacoanele T75, 5-10 ml. Apoi, se acoperă celulele complet cu Accutase, folosind 1-2 ml pentru flacoanele T25 şi 2,5 ml pentru flacoanele T75. Lăsaţi celulele la incubare la temperatura camerei timp de 8-10 minute pentru a le detaşa. După incubare, amestecaţi uşor celulele cu 10 ml de mediu pentru a le resuspenda, apoi centrifugaţi la 300xg timp de 3 minute. Aruncaţi supernatantul, resuspendaţi celulele în mediu proaspăt şi transferaţi-le în flacoane noi care conţin deja mediu proaspăt.

Celule RWPE-1 | 305217

Freeze medium	Ca mediu de crioconservare, folosim mediu de creștere complet (inclusiv FBS) + 10% DMSO pentru o viabilitate adecvată după dezghețare sau CM-1 (număr de catalog Cytion 800100), care include osmoprotectanți optimizați și stabilizatori metabolici pentru a spori recuperarea și a reduce stresul indus de criogenie.

Thawing and Culturing Cells

1. Confirmați că flaconul rămâne profund înghețat la livrare, deoarece celulele sunt expediate pe gheață carbonică pentru a menține temperaturi optime în timpul transportului.
2. La primire, fie depozitați crioviola imediat la temperaturi sub -150 °C pentru a asigura păstrarea integrității celulare, fie treceți la etapa 3 dacă este necesară cultivarea imediată.
3. Pentru cultivarea imediată, dezghețați rapid flaconul prin scufundarea acestuia într-o baie de apă la 37 °C cu apă curată și un agent antimicrobian, agitându-l ușor timp de 40-60 de secunde până când rămâne o mică aglomerare de gheață.
4. Se efectuează toate etapele ulterioare în condiții sterile, într-o hotă cu flux, dezinfectând crioviola cu etanol 70% înainte de deschidere.
5. Se deschide cu grijă flaconul dezinfectat și se transferă suspensia celulară într-un tub de centrifugare de 15 ml care conține 8 ml de mediu de cultură la temperatura camerei, amestecând ușor.
6. Se centrifughează amestecul la 300 x g timp de 3 minute pentru a separa celulele și se aruncă cu grijă supernatantul care conține mediul de congelare rezidual.
7. Se resuspendă ușor peletul celular în 10 ml de mediu de cultură proaspăt. Pentru celulele aderente, împărțiți suspensia între două flacoane de cultură T25; pentru culturile în suspensie, transferați tot mediul într-un flacon T25 pentru a promova interacțiunea și creșterea celulară eficientă.
8. Respectați protocoalele de subcultură stabilite pentru creșterea și menținerea continuă a liniei celulare, asigurând rezultate experimentale fiabile.

Incubation Atmosphere	37°C, 5%$_{CO2}$, atmosferă umidificată.
Flask Coating	Niciuna
Freezing Procedure	Liniile celulare crioconservate sunt expediate pe gheață carbonică în ambalaje izolate, validate, cu suficient agent frigorific pentru a menține aproximativ -78 °C pe toată durata transportului. La primire, se inspectează imediat recipientul și se transferă fără întârziere fiolele în depozitul corespunzător.

Celule RWPE-1 | 305217

Shipping Conditions	Liniile celulare crioconservate sunt expediate pe gheaţă carbonică în ambalaje izolate, validate, cu suficient agent frigorific pentru a menţine aproximativ -78 °C pe toată durata transportului. La primire, se inspectează imediat recipientul şi se transferă fără întârziere fiolele în depozitul corespunzător.
Storage Conditions	Pentru conservarea pe termen lung, flacoanele se plasează în azot lichid în fază de vapori la o temperatură cuprinsă între -150 şi -196 °C. Păstrarea la -80 °C este acceptabilă doar ca o scurtă etapă intermediară înainte de transferul în azot lichid.

Controlul calităţii şi analiza moleculară

Sterility	Contaminarea cu micoplasmă este exclusă utilizând atât teste bazate pe PCR, cât şi metode de detectare a micoplasmei bazate pe luminescenţă. Pentru a se asigura că nu există contaminare bacteriană, fungică sau de drojdie, culturile celulare sunt supuse unor inspecţii vizuale zilnice.
Profilul 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