Product sheet

RWPE-1-celler | 305217

Allmän information

Description	RWPE-1-cellinjen, som härrör från prostatepitelet hos en 54-årig kaukasisk man utan tecken på prostatacancer, är en värdefull resurs inom biomedicinsk forskning, särskilt för studier av prostatabiologi och -cancer. Dessa epitelceller, som kännetecknas av sina vidhäftande tillväxtegenskaper och typiska epitelmorfologi, immortaliserades med hjälp av ett replikationsbristande retrovirus som bär E7-genen från humant papillomvirus 18 (HPV-18), vilket inaktiverar retinoblastomproteinet och främjar cellulär immortalisering. RWPE-1-celler, som härrör från en normal mänsklig prostata, används inom prostatacancerforskningen, även om deras androgenreceptoruttryck är relativt blygsamt, särskilt jämfört med tumörframkallande cellinjer som härrör från prostatacancer. Den epiteliala cellinjen RWPE-1 uttrycker cytokeratinerna 8 och 18, vilket bekräftar deras epiteliala härstamning. RWPE-1-cellerna uttrycker visserligen tumörsuppressorer som p53 och pRB, vilket visar att de inte är tumörframkallande, men uttrycket av prostataspecifika markörer som Kallikrein 3 (KLK3) eller PSA är i allmänhet lågt eller obefintligt under standardiserade odlingsförhållanden. I 3D-kulturer, som de som bildas i Matrigel, kan mänskliga celler RWPE-1 organiseras till acinära strukturer som påminner om normal prostataarkitektur. När det gäller utsöndringen av PSA (prostataspecifikt antigen) som svar på androgen stimulering uppvisar RWPE-1-celler en mindre uttalad reaktion jämfört med cellinjer för prostatacancer. RWPE-1-cellerna är därför en värdefull modell för att förstå de grundläggande egenskaperna hos normala epitelceller i prostatan. RWPE-1:s icke-tumorogena karaktär fungerar som en modell för att studera övergången till tumörframkallande omvandling och dynamiken hos cancerceller, inklusive metastaserande prostatacancerceller och prostatacarcinogenes. Genom att inkludera faktorer som EGF och tillväxthormon i odlingsförhållandena kan man ytterligare belysa de vägar som är involverade i prostatahyperplasi och utvecklingen mot prostatacancer. Sammanfattningsvis underlättar RWPE-1-celler en omfattande förståelse av prostatacancer, från dess initiering i prostatacellinjer till dess manifestation hos prostatacancerpatienter.
Organism	Människan
Tissue	Prostata
Synonyms	RWPE1

Egenskaper

Age	54 år
Gender	Man
Ethnicity	Kaukasisk
Morphology	Epitelial
Cell type	Epitelialcell i prostata

RWPE-1-celler | 305217

Growth properties	Följsam

Lagstadgade uppgifter

Citation	RWPE-1 (Cytion katalognummer 305217)
Biosafety level	RWPE-1 är klassificerad som biosäkerhetsnivå 1 eller 2 (BSL-1/2) i Tyskland, beroende på vilken typ av arbete som utförs. Cellinjen härrör från epitelceller från mänsklig prostata som transfekterats med en enda kopia av HPV-18 och är negativ för hepatit B, hepatit C och HIV. Frisättning av viruspartiklar är osannolik, eftersom HPV-18 kräver differentierade epitelceller för replikation och en enda kopia av genomet normalt inte leder till partikelbildning. Sådan frisättning är endast teoretiskt möjlig i 3D-kulturer (t.ex. organotypiska kulturer eller raftkulturer) men är utesluten i monolagerkulturer. På grund av förekomsten av det fullständiga HPV-18-genomet kategoriseras RWPE-1 som en riskgrupp 2-organism för gentekniska ändamål.
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_3791

Biomolekylära data

Karyotype	RWPE-1-celler har en diploid kromosomal ploidi och uppvisar kromosomvariationer som 45, X,-Y, och 51, XY.

Hantering

Culture Medium	K-SFM (Vi levererar inte denna produkt, vänligen överväg andra leverantörer. Vänligen meddela oss om du behöver ytterligare hjälp)
Supplements	Komplettera mediet med 0,05 mg/ml BPE, 5 ng/ml EGF. Mediet ska inte filtreras helt och hållet. Tillsätt BPE och EGF till 10 mL, och efter sterilfiltrering, införliva denna blandning i mediet.
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Ta bort det gamla mediet från de adherenta cellerna och tvätta dem med PBS som saknar kalcium och magnesium. Använd 3-5 ml PBS för T25-kolvar och 5-10 ml för T75-kolvar. Täck sedan cellerna helt med Accutase, använd 1-2 ml för T25-kolvar och 2,5 ml för T75-kolvar. Låt cellerna inkubera i rumstemperatur i 8-10 minuter så att de lossnar. Efter inkubationen, blanda cellerna försiktigt med 10 ml medium för att resuspendera dem och centrifugera sedan vid 300xg i 3 minuter. Kassera supernatanten, resuspendera cellerna i färskt medium och överför dem till nya kolvar som redan innehåller färskt medium.

RWPE-1-celler | 305217

Freeze medium	Som kryokonserveringsmedium använder vi komplett tillväxtmedium (inklusive FBS) + 10% DMSO för adekvat viabilitet efter upptining, eller CM-1 (Cytion katalognummer 800100), som innehåller optimerade osmoprotektanter och metaboliska stabilisatorer för att förbättra återhämtningen och minska kryoinducerad stress.

Thawing and Culturing Cells

1. Bekräfta att flaskan är djupfryst vid leverans, eftersom cellerna skickas på torris för att bibehålla optimala temperaturer under transporten.
2. Vid mottagandet ska du antingen förvara kryovialen omedelbart vid temperaturer under -150 °C för att säkerställa att cellernas integritet bevaras, eller gå vidare till steg 3 om omedelbar odling krävs.
3. Vid omedelbar odling ska injektionsflaskan snabbt tinas genom att den sänks ned i ett 37 °C vattenbad med rent vatten och ett antimikrobiellt medel och omrörs försiktigt i 40-60 sekunder tills en liten isklump återstår.
4. Utför alla efterföljande steg under sterila förhållanden i en flödeshuv och desinficera kryovialerna med 70 % etanol innan de öppnas.
5. Öppna försiktigt den desinficerade flaskan och överför cellsuspensionen till ett 15 ml centrifugrör som innehåller 8 ml rumstempererat odlingsmedium och blanda försiktigt.
6. Centrifugera blandningen vid 300 x g i 3 minuter för att separera cellerna och kassera försiktigt supernatanten som innehåller resterande frysmedium.
7. Resuspendera försiktigt cellpelleten i 10 ml färskt odlingsmedium. För adherenta celler, fördela suspensionen mellan två T25-kulturkolvar; för suspensionskulturer, överför allt medium till en T25-kolv för att främja effektiv cellinteraktion och tillväxt.
8. Följ fastställda subkulturprotokoll för fortsatt tillväxt och underhåll av cellinjen, vilket säkerställer tillförlitliga experimentella resultat.

Incubation Atmosphere	37°C, 5%$_{CO2}$, befuktad atmosfär.
Flask Coating	Ingen
Freezing Procedure	Kryopreserverade cellinjer skickas på torris i validerade, isolerade förpackningar med tillräckligt med kylmedel för att hålla cirka -78 °C under hela transporten. Vid mottagandet ska behållaren omedelbart inspekteras och flaskorna utan dröjsmål överföras till lämplig förvaring.

Shipping Conditions	Kryopreserverade cellinjer skickas på torris i validerade, isolerade förpackningar med tillräckligt med kylmedel för att hålla cirka -78 °C under hela transporten. Vid mottagandet ska behållaren omedelbart inspekteras och flaskorna utan dröjsmål överföras till lämplig förvaring.
Storage Conditions	För långtidsförvaring, placera flaskorna i flytande kväve i ångfas vid ca -150 till -196 °C. Förvaring vid -80 °C är acceptabelt endast som ett kort mellanliggande steg innan överföring till flytande kväve.

Kvalitetskontroll och molekylär analys

Sterility	Mykoplasmakontaminering utesluts med hjälp av både PCR-baserade analyser och luminiscensbaserade metoder för mykoplasmadiagnostik. För att säkerställa att det inte finns någon kontaminering av bakterier, svamp eller jäst utsätts cellkulturerna för dagliga visuella inspektioner.
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