Product sheet

Bunky RWPE-1 | 305217

Všeobecné informácie

Description	Bunková línia RWPE-1, odvodená z epitelu prostaty 54-ročného muža bielej rasy bez známok rakoviny prostaty, je cenným zdrojom v biomedicínskom výskume, najmä pri štúdiách biológie a rakoviny prostaty. Tieto epitelové bunky, ktoré sa vyznačujú adherenčnými rastovými vlastnosťami a typickou epitelovou morfológiou, boli imortalizované pomocou retrovírusu s nedostatočnou replikáciou, ktorý nesie gén E7 z ľudského papilomavírusu 18 (HPV-18), ktorý inaktivuje retinoblastómový proteín a podporuje bunkovú imortalizáciu. Bunky RWPE-1, pochádzajúce z normálnej ľudskej prostaty, sa využívajú vo výskume rakoviny prostaty, hoci ich expresia androgénnych receptorov je relatívne skromná, najmä v porovnaní s nádorovými bunkovými líniami odvodenými od rakoviny prostaty. Epitelová bunková línia RWPE-1 exprimuje cytokeratíny 8 a 18, ktoré potvrdzujú jej epitelovú líniu. Hoci bunky RWPE-1 exprimujú nádorové supresory, ako sú p53 a pRB, čo odráža ich nenádorovú povahu, expresia markerov špecifických pre prostatu, ako je kallikreín 3 (KLK3) alebo PSA, je za štandardných kultivačných podmienok vo všeobecnosti nízka alebo chýba. V 3D kultúrach, ako sú tie vytvorené v Matrigely, sa ľudské bunky RWPE-1 môžu organizovať do acinárnych štruktúr pripomínajúcich normálnu architektúru prostaty. Pokiaľ ide o vylučovanie PSA (prostatického špecifického antigénu) v reakcii na stimuláciu androgénmi, bunky RWPE-1 vykazujú menej výraznú reakciu v porovnaní s bunkovými líniami rakoviny prostaty. Preto zatiaľ čo bunky RWPE-1 ponúkajú cenný model na pochopenie základných vlastností normálnych epitelových buniek prostaty. Nenádorová povaha RWPE-1 slúži ako model na štúdium prechodu k nádorovej transformácii a dynamiky nádorových buniek vrátane metastatických buniek rakoviny prostaty a karcinogenézy prostaty. Zahrnutie faktorov ako EGF a rastový hormón do kultivačných podmienok môže ďalej objasniť cesty, ktoré sa podieľajú na hyperplázii prostaty a progresii smerom k rakovine prostaty. Celkovo možno povedať, že bunky RWPE-1 umožňujú komplexné pochopenie rakoviny prostaty, od jej vzniku v bunkových líniách prostaty až po jej prejavy u pacientov s rakovinou prostaty.
Organism	Ľudské
Tissue	Prostata
Synonyms	RWPE1

Charakteristika

Age	54 rokov
Gender	Muži
Ethnicity	Kaukazský
Morphology	Epitelové
Cell type	Epitelová bunka prostaty

Bunky RWPE-1 | 305217

Growth properties	Adherent

Regulačné údaje

Citation	RWPE-1 (katalógové číslo Cytion 305217)
Biosafety level	RWPE-1 je v Nemecku klasifikovaný ako stupeň biologickej bezpečnosti 1 alebo 2 (BSL-1/2) v závislosti od typu vykonávanej práce. Bunková línia pochádza z ľudských epitelových buniek prostaty transfekovaných jednou kópiou HPV-18 a je negatívna na hepatitídu B, hepatitídu C a HIV. Uvoľňovanie vírusových častíc je nepravdepodobné, pretože HPV-18 si na replikáciu vyžaduje diferencované epitelové bunky a jediná kópia genómu zvyčajne nevedie k tvorbe častíc. Takéto uvoľňovanie je teoreticky možné len v 3D kultúrach (napr. organotypové alebo raftové kultúry), ale je vylúčené v jednovrstvových kultúrach. Vzhľadom na prítomnosť úplného genómu HPV-18 je RWPE-1 na účely genetického inžinierstva zaradený do rizikovej skupiny 2.
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_3791

Biomolekulárne údaje

Karyotype	Bunky RWPE-1 majú diploidnú chromozómovú ploidiu a vykazujú chromozómové variácie, ako napríklad 45, X,-Y a 51, XY.

Spracovanie

Culture Medium	K-SFM (Tento produkt nedodávame; zvážte prosím iných dodávateľov. Ak potrebujete ďalšiu pomoc, dajte nám prosím vedieť)
Supplements	Doplňte médium o 0,05 mg/ml BPE, 5 ng/ml EGF. Médium by nemalo byť úplne filtrované. Pridajte BPE a EGF do 10 ml a po sterilnom prefiltrovaní túto zmes začleňte do média.
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Odstráňte staré médium z adherovaných buniek a premyte ich PBS, ktorý neobsahuje vápnik a horčík. Pre banky T25 použite 3 - 5 ml PBS a pre banky T75 použite 5 - 10 ml. Potom bunky úplne pokryte Accutase, pričom použite 1 - 2 ml pre banky T25 a 2,5 ml pre banky T75. Nechajte bunky inkubovať pri izbovej teplote 8-10 minút, aby sa oddelili. Po inkubácii jemne premiešajte bunky s 10 ml média, aby boli znovu suspendované, a potom ich 3 minúty odstreďujte pri 300xg. Supernatant zlikvidujte, bunky znovu rozmiešajte v čerstvom médiu a preneste ich do nových fliaš, ktoré už obsahujú čerstvé médium.

Bunky RWPE-1 | 305217

Freeze medium	Ako kryokonzervačné médium používame kompletné rastové médium (vrátane FBS) + 10 % DMSO na zabezpečenie primeranej životaschopnosti po rozmrazení alebo CM-1 (katalógové číslo 800100 spoločnosti Cytion), ktoré obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory na zlepšenie obnovy a zníženie stresu spôsobeného kryo.

Thawing and Culturing Cells

1. Overte si, že injekčná liekovka zostane pri doručení hlboko zmrazená, pretože bunky sa prepravujú na suchom ľade, aby sa počas prepravy udržala optimálna teplota.
2. Po prijatí buď okamžite uskladnite kryovialku pri teplote nižšej ako -150 °C, aby ste zabezpečili zachovanie bunkovej integrity, alebo prejdite na krok 3, ak je potrebná okamžitá kultivácia.
3. V prípade okamžitej kultivácie injekčnú liekovku rýchlo rozmrazte ponorením do vodného kúpeľa s teplotou 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálnym prostriedkom, pričom ju jemne miešajte 40 - 60 sekúnd, kým nezostane malý ľadový chumáč.
4. Všetky ďalšie kroky vykonajte v sterilných podmienkach v prietokovom digestore a pred otvorením kryovialku dezinfikujte 70 % etanolom.
5. Opatrne otvorte dezinfikovanú fľaštičku a preneste bunkovú suspenziu do 15 ml centrifugačnej skúmavky obsahujúcej 8 ml kultivačného média s izbovou teplotou a jemne premiešajte.
6. Zmes odstreďujte pri 300 x g počas 3 minút, aby sa bunky oddelili, a opatrne zlikvidujte supernatant obsahujúci zvyšky zmrazovacieho média.
7. Pelet buniek jemne resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačného média. V prípade adherentných buniek rozdeľte suspenziu medzi dve kultivačné banky T25; v prípade suspenzných kultúr preneste všetko médium do jednej banky T25, aby ste podporili účinnú interakciu a rast buniek.
8. Dodržiavajte zavedené subkultivačné protokoly na nepretržitý rast a udržiavanie bunkovej línie, čím sa zabezpečia spoľahlivé výsledky experimentov.

Incubation Atmosphere	37 °C, 5 % $_{CO2}$, zvlhčená atmosféra.
Flask Coating	Žiadne
Freezing Procedure	Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne -78 °C počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

Bunky RWPE-1 | 305217

Shipping Conditions	Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne -78 °C počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.
Storage Conditions	Na dlhodobé uchovávanie umiestnite injekčné liekovky do kvapalnej fázy dusíka v pare pri teplote približne -150 až -196 °C. Skladovanie pri teplote -80 °C je prijateľné len ako krátky prechodný krok pred presunom do tekutého dusíka.

Kontrola kvality a molekulárna analýza

Sterility	Kontaminácia mykoplazmami sa vylučuje pomocou testov založených na PCR a metód detekcie mykoplaziem založených na luminiscencii. Aby sa zabezpečilo, že nedošlo ku kontaminácii baktériami, hubami alebo kvasinkami, bunkové kultúry sa denne vizuálne kontrolujú.
STR profile	**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