

Celice RWPE-1 | 305217

Splošne informacije

Description

Celična linija RWPE-1, pridobljena iz epitelijske prostate 54-letnega kavkaškega moškega brez znakov raka prostate, je dragocen vir v biomedicinskih raziskavah, zlasti za študije o biologiji in raku prostate. Te epitelijske celice, za katere so značilne adherentne rastne lastnosti in tipična epitelijska morfologija, so bile immortalizirane z uporabo retrovirusa s pomanjkljivo replikacijo, ki nosi gen E7 iz človeškega papiloma virusa 18 (HPV-18), ki inaktivira protein retinoblastoma in spodbuja celično immortalizacijo.

Celice RWPE-1, ki izvirajo iz normalne človeške prostate, se uporabljajo pri raziskavah raka prostate, čeprav je njihovo izražanje androgenih receptorjev razmeroma skromno, zlasti v primerjavi s tumorigenimi celičnimi linijami, ki izvirajo iz raka prostate. Epitelijska celična linija RWPE-1 izraža citokeratina 8 in 18, ki potrjujeta njeno epitelijsko linijo. Čeprav celice RWPE-1 izražajo tumorske supresorje, kot sta p53 in pRB, kar kaže na njihovo netumorigeno naravo, je izražanje za prostato specifičnih označevalcev, kot sta kalikrein 3 (KLK3) ali PSA, v standardnih pogojih gojenja na splošno nizko ali ga ni.

V 3D-kulturah, kot so tiste v Matrigeli, se lahko človeške celice RWPE-1 organizirajo v acinarne strukture, ki spominjajo na normalno zgradbo prostate. Pri izločanju PSA (prostatičnega specifičnega antigena) kot odzivu na androgeno stimulacijo celice RWPE-1 kažejo manj izrazito reakcijo v primerjavi s celičnimi linijami raka prostate. Zato so celice RWPE-1 dragocen model za razumevanje osnovnih lastnosti normalnih epitelijskih celic prostate.

Ker celice RWPE-1 niso tumorogene, služijo kot model za preučevanje prehoda v tumorigeno transformacijo in dinamike rakavih celic, vključno z metastatskimi celicami raka prostate in kancerogenezo prostate. Z vključitvijo dejavnikov, kot sta EGF in rastni hormon, v pogoje gojenja lahko dodatno pojasnimo poti, ki so vključene v hiperplazijo prostate in napredovanje v raku prostate. Če povzamemo, celice RWPE-1 omogočajo celovito razumevanje raka prostate, od njegovega nastanka v celičnih linijah prostate do pojavljanja pri bolnikih z rakom prostate.

Organism Človek

Tissue Prostata

Synonyms RWPE1

Značilnosti

Age 54 let

Gender Moški

Ethnicity Kavkaški

Morphology Epitelijski

Cell type Epitelijska celica prostate

Celice RWPE-1 | 305217

Growth properties Pripadajoče

Regulativni podatki

Citation RWPE-1 (kataloška številka Cytion 305217)

Biosafety level RWPE-1 je v Nemčiji razvrščen v 1. ali 2. stopnjo biološke varnosti (BSL-1/2), odvisno od vrste opravljenega dela. Celična linija izvira iz človeških epiteljskih celic prostate, transfundiranih z eno kopijo HPV-18, in je negativna na hepatitis B, hepatitis C in HIV. Sproščanje virusnih delcev je malo verjetno, saj HPV-18 za replikacijo potrebuje diferencirane epiteljske celice, ena sama kopija genoma pa običajno ne povzroči nastanka delcev. Takšno sproščanje je teoretično možno le v 3D-kulturah (npr. organotipskih kulturah ali kulturah s splavi), v enoslojnih kulturah pa je izključeno. Zaradi prisotnosti celotnega genoma HPV-18 je RWPE-1 za namene genskega inženiringa uvrščen v skupino organizmov tveganja 2.

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_3791

Biomolekularni podatki

Karyotype Celice RWPE-1 imajo diploidno kromosomsko ploidnost in kažejo kromosomske variacije, kot so 45, X,-Y in 51, XY.

Ravnanje s spletno stranjo

Culture Medium K-SFM (Tega izdelka ne dobavljamo; prosimo, upoštevajte druge dobavitelje. Če potrebujete dodatno pomoč, nam to sporočite)

Supplements Gojišče dopolnite z 0,05 mg/ml BPE in 5 ng/ml EGF. Gojišče ne sme biti v celoti filtrirano. Dodajte BPE in EGF v 10 mL in po sterilnem filtriranju to mešanico vključite v gojišče.

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Odstranite staro gojišče z adherentnih celic in jih sperite s PBS, ki ne vsebuje kalcija in magnezija. Za bučke T25 uporabite 3-5 ml PBS, za bučke T75 pa 5-10 ml. Nato celice popolnoma prekrijte z Accutase, pri čemer uporabite 1-2 ml za bučke T25 in 2,5 ml za bučke T75. Celice pustite inkubirati pri sobni temperaturi 8-10 minut, da se ločijo. Po inkubaciji celice nežno premešajte z 10 ml gojišča, da se ponovno suspendirajo, nato jih 3 minute centrifugirajte pri 300xg. Zavrzite supernatant, ponovno suspendirajte celice v svežem gojišču in jih prenesite v nove bučke, ki že vsebujejo sveže gojišče.

Celice RWPE-1 | 305217

Freeze medium

Kot gojišče za kriokonzervacijo uporabljamo popolno rastno gojišče (vključno s FBS) + 10 % DMSO za ustrezno vitalnost po odmrznitvi ali CM-1 (kataloška številka 800100 podjetja Cytion), ki vključuje optimizirane osmoprotektante in presnovne stabilizatorje za izboljšanje okrevanja in zmanjšanje stresa, povzročenga s kriom.

Thawing and Culturing Cells

1. Prepričajte se, da je viala ob dostavi globoko zamrznjena, saj se celice pošiljajo na suhem ledu, da se med prevozom ohranijo optimalne temperature.
2. Po prejemu kriovial takoj shranite pri temperaturi pod $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, da zagotovite ohranitev celične celovitosti, ali pa nadaljujte s korakom 3, če je potrebno takojšnje gojenje.
3. Za takojšnje gojenje vialo hitro odtalite tako, da jo potopite v vodno kopel s čisto vodo in protimikrobnim sredstvom pri $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ ter 40-60 sekund nežno mešate, dokler ne ostane majhen ledeni kepica.
4. Vse nadaljnje korake izvajajte v sterilnih pogojih v pretočni nape, pred odprtjem pa kriovial razkužite s 70 % etanolom.
5. Previdno odprite razkuženo vialo in celično suspenzijo prenesite v 15-mililitrsko centrifugirno epruveto, ki vsebuje 8 ml gojišča sobne temperature, ter nežno premešajte.
6. Mešanico centrifugirajte pri $300 \times g$ 3 minute, da ločite celice, in previdno zavržite supernatant, ki vsebuje ostanke zamrzovalnega gojišča.
7. Pelet celic nežno ponovno suspendirajte v 10 ml svežega gojišča. Pri adherentnih celicah suspenzijo razdelite med dve bučki T25; pri suspenzijskih kulturah prenesite vse gojišče v eno bučko T25, da spodbudite učinkovito interakcijo in rast celic.
8. Upoštevajte uveljavljene protokole subkultur za nadaljnjo rast in vzdrževanje celične linije ter tako zagotovite zanesljive rezultate poskusov.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5 % CO_2 , vlažno ozračje.

Flask Coating

Za optimalno pritrđitev in sposobnost preživetja po odmrznitvi priporočamo uporabo s **kolagenom prevlečenih bučk ali plošč**.

Celice RWPE-1 | 305217

Freezing Procedure

Kriokonzervirane celične linije se pošiljajo na suhem ledu v potrjeni, izolirani embalaži z zadostno količino hladilnega sredstva, da se med prevozom vzdržuje približno -78°C . Ob prejemu takoj preglejte embalažo in vialo nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.

Shipping Conditions

Kriokonzervirane celične linije se pošiljajo na suhem ledu v potrjeni, izolirani embalaži z zadostno količino hladilnega sredstva, da se med prevozom vzdržuje približno -78°C . Ob prejemu takoj preglejte embalažo in vialo nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.

Storage Conditions

Za dolgotrajno shranjevanje vialo postavite v tekoči dušik v parni fazi pri približno -150 do -196°C . Shranjevanje pri -80°C je sprejemljivo le kot kratek vmesni korak pred prenosom v tekoči dušik.

Nadzor kakovosti / Genetski profil / HLA

Sterility

Kontaminacija z mikoplazmo se izključi z uporabo testov na podlagi PCR in metod za odkrivanje mikoplazme na podlagi luminiscence.

Da se zagotovi, da ni kontaminacije z bakterijami, glivami ali kvasovkami, se celične kulture dnevno vizualno pregledujejo.