Product sheet

Клітини RWPE-1 | 305217

Загальна інформація

Description	Клітинна лінія RWPE-1, отримана з епітелію простати 54-річного європеоїдного чоловіка без ознак раку простати, є цінним ресурсом для біомедичних досліджень, зокрема для вивчення біології простати та раку. Ці епітеліальні клітини, що характеризуються властивостями адгезійного росту і типовою епітеліальною морфологією, були імморталізовані за допомогою ретровірусу з дефіцитом реплікації, який несе ген E7 з вірусу папіломи людини 18 (ВПЛ-18), що інактивує білок ретинобластоми і сприяє клітинній імморталізації. Клітини RWPE-1, що походять з нормальної передміхурової залози людини, використовуються в дослідженнях раку передміхурової залози, хоча їх експресія андрогенних рецепторів відносно скромна, особливо в порівнянні з пухлинними клітинними лініями, отриманими з раку передміхурової залози. Епітеліальна клітинна лінія RWPE-1 експресує цитокератини 8 і 18, що підтверджує їх епітеліальне походження. Хоча клітини RWPE-1 експресують пухлинні супресори, такі як p53 і pRB, що свідчить про їх непухлинну природу, експресія специфічних для простати маркерів, таких як калікреїн 3 (KLK3) або ПСА, зазвичай низька або відсутня за стандартних умов культивування. У 3D-культурах, таких як ті, що формуються в Matrigel, людські клітини RWPE-1 можуть організовуватися в ацинарні структури, що нагадують нормальну архітектуру простати. Що стосується секреції ПСА (простат-специфічного антигену) у відповідь на стимуляцію андрогенами, то клітини RWPE-1 демонструють менш виражену реакцію порівняно з клітинними лініями раку простати. Таким чином, клітини RWPE-1 є цінною моделлю для розуміння основних властивостей нормальних епітеліальних клітин передміхурової залози. Непухлинна природа RWPE-1 служить моделлю для вивчення переходу до пухлинної трансформації і динаміки ракових клітин, включаючи метастатичні клітини раку простати і канцерогенезу простати. Включення в умови культивування таких факторів, як EGF і гормон росту, може сприяти подальшому з'ясуванню шляхів, що беруть участь у гіперплазії простати і прогресуванні до раку передміхурової залози. Таким чином, клітини RWPE-1 сприяють всебічному розумінню раку передміхурової залози, від його ініціації в клітинних лініях передміхурової залози до маніфестації у пацієнтів з раком передміхурової залози.
Organism	Людина
Tissue	Простата
Synonyms	RWPE1

Характеристики

Age	54 роки
Gender	Чоловік
Ethnicity	Кавказець

Product sheet

Клітини RWPE-1 | 305217

Morphology	Епітеліальний
Cell type	Епітеліальна клітина простати
Growth properties	Адепт

Нормативні дані

Citation	RWPE-1 (номер за каталогом Cytion 305217)
Biosafety level	RWPE-1 класифікується в Німеччині як рівень біобезпеки 1 або 2 (BSL-1/2), залежно від типу роботи, що проводиться. Клітинна лінія походить від епітеліальних клітин простати людини, трансфікованих однією копією ВПЛ-18, і є негативною щодо гепатиту B, гепатиту C та ВІЛ. Вивільнення вірусних частинок є малоймовірним, оскільки ВПЛ-18 потребує диференційованих епітеліальних клітин для реплікації, а одна копія геному зазвичай не призводить до утворення частинок. Таке вивільнення лише теоретично можливе в 3D-культурах (наприклад, органотипових або площинних культурах), але виключене в моношарових культурах. Через наявність повного геному ВПЛ-18, RWPE-1 відноситься до групи ризику 2 для цілей генної інженерії.
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_3791

Біомолекулярні дані

Karyotype	Клітини RWPE-1 мають диплоїдну хромосомну плоїдність і демонструють хромосомні варіації, такі як 45, X,-Y і 51, XY.

Обробка

Culture Medium	K-SFM (Ми не постачаємо цей продукт; будь ласка, зверніться до інших постачальників. Будь ласка, дайте нам знати, якщо вам потрібна додаткова допомога)
Supplements	Додайте до середовища 0,05 мг/мл BPE, 5 нг/мл EGF. Середовище не повинно бути повністю відфільтрованим. Додайте BPE та EGF до 10 мл і після стерильної фільтрації внесіть цю суміш у середовище.
Dissociation Reagent	Аккутаза

Клітини RWPE-1 | 305217

Subculturing	Видаліть старе середовище з прилиплих клітин і промийте їх PBS, в якому бракує кальцію і магнію. Для колб T25 використовуйте 3-5 мл PBS, а для колб T75 - 5-10 мл. Потім повністю покрийте клітини аккутазою, використовуючи 1-2 мл для колб T25 і 2,5 мл для колб T75. Залиште клітини інкубуватися при кімнатній температурі протягом 8-10 хвилин, щоб відокремити їх. Після інкубації обережно змішайте клітини з 10 мл середовища, щоб ресуспендувати їх, а потім центрифугуйте при 300xg протягом 3 хвилин. Викиньте надосадову рідину, ресуспендуйте клітини у свіжому середовищі та перенесіть їх у нові колби, які вже містять свіже середовище.
Freeze medium	Як середовище кріоконсервування ми використовуємо повне живильне середовище (включаючи FBS) + 10% ДМСО для адекватної життєздатності після відтавання або CM-1 (номер за каталогом Cytion 800100), до складу якого входять оптимізовані осмопротектори та метаболічні стабілізатори для прискорення відновлення та зменшення кріоіндукованого стресу.

Thawing and Culturing Cells

1. Переконайтеся, що віал залишається глибоко замороженим після доставки, оскільки клітини транспортуються на сухому льоду для підтримання оптимальної температури під час транспортування.

2. Після отримання негайно зберігайте кріовіал при температурі нижче -150°C, щоб забезпечити збереження клітинної цілісності, або перейдіть до кроку 3, якщо потрібне негайне культивування.

3. Для негайного культивування швидко розморозьте віал, занурivши його у водяну баню з чистою водою і антимікробним засобом при температурі 37°C, обережно перемішуючи протягом 40-60 секунд, поки не залишиться невелика крижана грудка.

4. Всі наступні кроки виконуйте в стерильних умовах у проточній витяжній шафі, дезінфікуючи кріовіал 70% етанолом перед відкриттям.

5. Обережно відкрийте продезінфікований флакон і перенесіть клітинну суспензію в 15 мл центрифужну пробірку, що містить 8 мл культурального середовища кімнатної температури, обережно перемішуючи.

6. Відцентрифугуйте суміш при 300 x g протягом 3 хвилин, щоб відокремити клітини, і обережно викиньте надосадову рідину, що містить залишки заморожувального середовища.

7. Обережно ресуспендуйте осад клітин у 10 мл свіжого культурального середовища. Для адгезивних клітин розділіть суспензію між двома культуральними колбами T25; для суспензійних культур перенесіть все середовище в одну колбу T25, щоб сприяти ефективній взаємодії та росту клітин.

8. Дотримуйтесь встановлених протоколів субкультивування для продовження росту і підтримання клітинної лінії, забезпечуючи надійні результати експерименту.

Клітини RWPE-1 | 305217

Incubation Atmosphere	37°C, 5% $_{CO2}$, волога атмосфера.
Flask Coating	Hi
Freezing Procedure	Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевіреній ізольованій упаковці з достатньою кількістю холодоагенту для підтримання температури приблизно -78 °C під час транспортування. При отриманні негайно огляньте контейнер і негайно перемістіть віали у відповідне місце для зберігання.
Shipping Conditions	Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевіреній ізольованій упаковці з достатньою кількістю холодоагенту для підтримання температури приблизно -78 °C під час транспортування. При отриманні негайно огляньте контейнер і без зволікань перемістіть флакони у відповідне місце зберігання.
Storage Conditions	Для тривалого зберігання помістіть флакони в парофазний рідкий азот при температурі від -150 до -196 °C. Зберігання при -80 °C допустиме лише як короткий проміжний етап перед перенесенням у рідкий азот.

Контроль якості та молекулярний аналіз

Sterility	Зараження мікоплазмою виключається за допомогою аналізів на основі ПЛР та люмінесцентних методів виявлення мікоплазми. Щоб переконатися у відсутності бактеріального, грибкового або дріжджового забруднення, клітинні культури піддаються щоденному візуальному контролю.

Клітини RWPE-1 | 305217

Профіль 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