RWPE-1 人正常前列腺上皮细胞

使用说明书

细胞名称 Cell name	RWPE-1 人正常前列腺上皮细胞
货号 NO.	ZQ0351
描述 Description	肿瘤抑制基因： p53 + [PubMed: 9214605] pRB + [PubMed: 9214605] 一位正常男性前列腺组织切片的周围区域的上皮细胞用单拷贝的人乳头瘤病毒的18(HPV-18)进行转化，建立了RWPE-1 (ATCC CRL-11609) 细胞株 [PubMed: 9214605]. 在三维 Matrigel 培养时，在雄激素作用下，RWPE-1 细胞形成腺胞并向培养基中分泌 PSA。[PubMed: 11170142]. 当与 Matrigel 或基质细胞混合注射雄性裸鼠时，RWPE-1 细胞也能形成腺胞[PubMed: 11304724] 并产生 PSA。来源于 RWPE-1 的细胞再用 Kirstin 鼠类肿瘤病毒转染 Ki-ras 基因，建立了能成瘤的 RWPE-2 细胞株(ATCC CRL-11610) [PubMed: 9214605] 和 RWPE2-W99 (ATCC CRL-2853) 细胞株。另外，用 N-甲醇-N-硝基脲(MNU)处理 RWPE-1，建立了一系列模拟前列腺癌进程中不同时期的成瘤细胞株。它们是 WPE1-NA22 (ATCC CRL-2849), WPE1-NB14 (ATCC CRL-2850, WPE1-NB11 (ATCC CRL-2851) 和 WPE1-NB26 (ATCC CRL-2852) 细胞株。据提供者报道，RWPE-1 细胞株(ATCC CRL-11609)经过检测，乙肝、丙肝、人免疫缺陷病毒都呈阴性。在本库通过支原体检测。在本库通过 STR 检测。
种属 Species	人
组织来源 Tissue	器官：前列腺；疾病：正常；细胞类型：上皮细胞
形态 Morphology	上皮细胞
培养特性 Culture Properties	贴壁
安全性 Safety	**所有肿瘤和病毒转染的细胞均视为有潜在的生物危害性，必须在二级生物安全台内操作，并请注意防护**
培养基 Culture Medium	**推荐培养基：500ml 基础培养基；5ml 角质细胞生长因子；5ml 青霉素/链霉素溶液** **（备注：每种组分单独包装，使用前需要按比例分装，详细操作详见说明书，现用现配，效果更佳。）** **配套完全培养基：（中乔新舟 货号：ZQ-1303）注意： 不要过滤完全培养基(因子有絮状物属于正常现象)** **温度：37℃** **气相：95%空气，5%二氧化碳**
细胞复苏 Cell Thawing	**注意:1.低温保存的细胞非常脆弱，请将冻存管放入 37℃的水浴中解冻，尽快复苏细胞。** **2.提前室温预热培养基。** 1.在无菌区准备好 15ml 离心管和 T-25 培养瓶并分别加入 5ml 完全培养基； 2.将冻存管放入 37℃水浴锅中，握住冻存管不停晃动，直到内容物完全融化。然后立即将冻存管从水浴中取出，擦干并喷洒 75%乙醇，移至无菌区； 3.小心地拆卸盖子，不要碰到里面的螺纹，用移液枪轻轻吸出细胞悬液，加入到准备好的 15ml 离心管中，1000rpm 离心 5min；

	4.弃上清后，轻弹离心管底部分散细胞沉淀，加入适量完全培养基重悬细胞后转入准备好的 T25 培养瓶（建议加液量：5~7ml）； 5.轻轻摇动培养瓶使细胞均匀分布，如有必要（如使用不透气瓶）松开阀盖，以便气体交换。 6.将培养瓶放入 CO_2 培养箱中培养。
传代 Subculturing	收到细胞后，请对细胞培养瓶外表进行消毒，将细胞置于培养箱中进行 1-2 小时的缓冲，待细胞恢复基本生长状态后，进行后续细胞实验。 在倒置显微镜下观察整个细胞生长情况： （一）细胞未长至 85%时，用 75%酒精喷洒整个瓶消毒后放到生物操作台内，严格无菌操作，打开细胞培养瓶，若培养瓶上无特殊标注，吸去剩余培养液，只留 6-8ml 培养液继续培养。 （二）细胞已长满（达 85-95%）。即可进行传代，具体步骤如下： 1.弃去培养液，用 PBS 洗涤 1-2 次； 2.加入 1.0ml 胰酶消化液，37℃消化约 5min（消化时间根据不同细胞、不同密度，胰酶浓度有所差异，具体时间以实际操作为准），显微镜下观察细胞消化情况，若细胞回缩变圆、透亮、轻拍瓶壁呈流沙样脱落，显微镜下观察所有细胞脱落，加入胰酶终止液，终止消化并轻轻吹打细胞 1-2 次，使其变成单细胞悬液； 3.将细胞收集于离心管中离心 1000rmp/5min，弃上清，轻弹管底，将细胞弹散； 4.加入新鲜培养基重悬细胞，进行传代； 5.如果没有特别说明，建议收到细胞后的第一次传代比例为 1:2。 **注：1.观察细胞密度最好用（4X 物镜）低倍镜观察，以便正确的判断细胞密度；观察细胞形态请用（10X 或 20X）高倍镜观察；** **2.使用 0.05%胰酶/EDTA 消化液；消化完成后建议通过添加等体积的 100μg/ml 大豆胰蛋白酶抑制剂终止消化并离心去除胰酶，再进行后续操作；** **3.瓶中运输的培养液不能重复使用，请换新鲜培养液培养；** **4.有些细胞贴壁不牢，如发现贴壁细胞有脱落，可离心重悬后接种到新瓶内。** **5.细胞在无血清培养体系中培养，其贴壁能力较弱，建议传代后静置 24 小时再进行后续操作；** **6.此细胞传代密度不宜太稀，接种密度建议在 2 万~4 万活细胞/cm^2，细胞密度建议保持在 4 万~ 7 万 cells/cm^2。** **7.二次消化：细胞放入培养箱消化 3 分钟后取出用手掌心拍打瓶尾观察细胞脱落情况，没有细胞脱落继续放培养箱，如果 5 分钟细胞只有轻微细胞脱落可以继续放培养箱或把消化下来的细胞收集起来并加入终止液，向培养瓶中添加胰酶 1-2ml 继续消化。当细胞有 80%左右脱落且成单个细胞后，可终止消化，用吸管吹打瓶里各部位 4-8 次。显微镜下观察所有细胞脱落，然后收集所有细胞悬液进行离心。**
保存 Storage	冻存条件：无血清细胞冻存液（中乔新舟 **货号：CSP042**） 保存条件：液氮存储
供应限制 Product Use	仅供研究之用
常见问题及解决方案 Questions and solutions	1.在收到细胞后先观察培养瓶是否破裂，漏液等，如遇到上述问题请及时拍照并与我们联系。 2.贴壁细胞：培养瓶不开封，显微镜下检查细胞状态，瓶口酒精擦拭后平躺放置在培养箱。1-2 小时后观察，如细胞大部分又贴回瓶底，表明细胞活力正常，剩余少量漂浮的细胞可以去掉，留 8-10ml 培养液培养观察，细胞生长至汇合度到达 85%左右，进行消化传代；如细胞仍不贴壁，将细胞离心收集转到新培养瓶，原培养瓶加部分培养液继续培养，注意观察。如细胞仍不能贴壁，请用台盼蓝染色鉴定细胞活力，并请及时拍照（多倍数多视野），包括染色照片，并联系我们。（以上仅为贴壁细胞处理方法） 3.悬浮细胞：培养瓶不开封，显微镜下检查细胞状态，瓶口酒精擦拭后平躺放置在培养箱。1-2 小

	时后观察，将整瓶细胞及培养液分批离心（1000rmp, 5min），加入适量培养基，根据离心后的细胞量进行放回培养或分瓶培养。（以上仅为悬浮细胞处理方法） 4.半悬细胞：培养瓶不开封，显微镜下检查细胞状态，瓶口酒精擦拭后平躺放置在培养箱。1-2 小时后观察，将整瓶细胞培养液上层悬浮细胞离心（1000rmp, 5min），重悬细胞后加入原培养瓶培养至传代。细胞数量较大，可将贴壁细胞消化下来，与上层悬浮细胞混匀传代。重悬上层悬浮细胞时必须保持下层贴壁细胞的营养条件，防止贴壁细胞缺乏营养。（以上仅为半悬细胞处理方法） 如遇到细胞培养问题请及时拍照并与我们联系，我们的技术人员会一直跟踪指导。