

RWPE-1 人正常前列腺上皮细胞

细胞介绍

该细胞来源于 54 岁白人男性。源于正常成人前列腺周边组织的上皮细胞经过转染 HPV-18 后建系得到该细胞株。在三维基质胶培养时，在雄激素作用下，RWPE-1 细胞形成腺泡并向培养基中分泌 PSA (kallikrein 3, KLK3)。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 细胞株和 RWPE2-W99 细胞株。同时，用 N-甲醇-N-硝基脲处理 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，分别是 WPE1-NA22, WPE1-NB14, WPE1-NB11 和 WPE1-NB26 细胞株。据提供者报道，RWPE-1 细胞株经过检测，乙肝、丙肝、人免疫缺陷病毒都呈阴性。

细胞特性

- 1) 来源：前列腺正常细胞
- 2) 形态：上皮细胞样，贴壁生长
- 3) 含量： $>1 \times 10^6$ 细胞数
- 4) 规格：T25 瓶或者 1mL 冻存管包装
- 5) 用途：仅供科研使用。

运输和保存

干冰运输及复苏好存活细胞

(1) 1mL 冻存管包装干冰运输，收到后-80 度冰箱保存过夜后转入液氮或直接复苏，若发现干冰已挥发干净、冻存管瓶盖脱落、破损及细胞有污染，请立即与我们联系。

(2) T25 瓶复苏的存活细胞常温发货，收到后按照细胞接收后的处理方法操作。

细胞接收后的处理

1) 收到细胞后，75%酒精消毒瓶壁将 T25 瓶置于 37℃ 培养箱放置约 2-3h，若发现培养瓶破损、有液溢出及细胞有污染，请拍照后及时联系我们。

2) 请在 4 或 5X 显微镜下确认细胞状态，同时给刚收到的细胞拍照 (10×, 20×) 各 2-3 张以及培养瓶外观照片一张留存，作为售后时收到时细胞状态的依据。

3) 贴壁细胞：细胞在 37℃ 培养箱中放置 2-3h，显微镜下观察细胞的生长和贴壁情况，有些贴壁细胞在快速递送过程中会因振动脱落和脱落后成团的情况。若镜下观察细胞的生长密度若在 60% 以下，可去除培养瓶中灌液培养基 (若有未贴壁的细胞需要离心回收，重悬打入到原培养瓶中)，加入新配制的完全培养基 6-8mL，放到细胞培养箱中继续培养。若细胞生长密度达 70%-80% 以上，可以对细胞进行传代处理。传代过程中，若因运输振动脱落的细胞需要离心回收。

4) 备注：运输用的培养基（灌液培养基）不能再用来培养细胞，请换用按照说明书细胞培养条件新配制的完全培养基来培养细胞。收到细胞后第一次传代建议 T25 培养瓶 1: 2 传代。

一. 培养基及培养冻存条件准备



1) 准备 角质细胞无血清培养基 (包含两个组份: 基础培养基 1 瓶+生长因子 1 管: 1mL 或者 5mL 两种) 添加对应因子按照收到的生长因子对应规格: 1mL 加 0.2%, 5mL 加 1%, 同时添加 1% P/S 来培养细胞。或者 准备 Defined K-SFM (货号:Delf-16576) 来培养细胞。

备注:

1、Defined K-SFM 培养液包含两个组份: 基础培养基 1 瓶 500mL+生长因子 1 管 1mL.

2、注意不要过滤完全培养基.

3、由于角质细胞无血清培养基或者 Defined K-SFM 为无血清培养液无法终止胰酶消化, 所以消化完成后要通过添加 2%FBS (用 D-PBS 稀释) 终止消化并离心去除胰酶, 再进行后续操作。无血清完全培养液建议添加抗生素一起培养。

4、该细胞贴壁性弱, 建议使用 Corning 的 cellbind 细胞培养瓶 进行细胞培养

2) 培养条件: 气相: 空气, 95%; 二氧化碳, 5%。温度: 37 摄氏度, 培养箱湿度为 70%-80%。细胞消化时间 3-4min。传代比例 1:2, 传代周期 2-3 天。

3) 冻存液: 完全培养液 92%, DMSO 8%, 现用现配。

二. 细胞处理

1) 冻存细胞的复苏

将含有 1mL 细胞悬液的冻存管在 37℃ 水浴中迅速摇晃解冻, 加入到含 4-6mL 完全培养基的离心管中混合均匀。在 1000RPM 条件下离心 3-5min, 弃去上清液, 完全培养基重悬细胞。然后将细胞悬液加入含 6-8mL 完全培养基的培养瓶 (或皿) 中 37℃ 培养过夜。第二天显微镜下观察细胞生长情况和细胞密度。

2) 细胞传代: 如果细胞密度达 80%-90%, 即可进行传代培养。

对于贴壁细胞传代可以参考以下方法

1. 弃去培养上清, 用不含钙、镁离子的 PBS 润洗细胞 1-2 次。

2. 加入 0.25% (w/v) 胰蛋白酶-0.53 mM EDTA 于培养瓶中 (T25 瓶 1-2mL, T75 瓶 2-3mL), 置于 37℃ 培养箱中消化 3-4min, 然后在显微镜下观察细胞消化情况, 若细胞大部分变圆并脱落, 迅速拿回操作台, 消化完成后要通过添加 2%FBS (用 D-PBS 稀释) 终止消化并离心去除胰酶, 再进行后续操作。

3. 轻轻打匀后吸出, 在 1000RPM 条件下离心 3-5min, 弃去上清液, 补加 1-2mL 培养液后吹匀。将细胞悬液按 1:2 的比例分到新 T25 瓶中, 添加 6-8mL 按照说明书要求配置的新的完全培养基以保持细胞的生长活力, 后续传代根据实际情况按 1:2~1:5 的比例进行。

3) 细胞冻存: 收到细胞后建议在培养前 3 代时冻存一批细胞种子以备后续实验使用。

下面 T25 瓶为例;

1. 细胞冻存时按照细胞传代的过程收集消化好的细胞到离心管中, 可使用血球计数板计数, 来决定细胞的冻存密度。一般细胞的推荐冻存密度为 $1 \times 10^6 \sim 1 \times 10^7$ 个活细胞/mL。

2. 1000rpm 离心 3-5min, 去掉上清。用配制好的细胞冻存液重悬细胞, 按每 1mL 冻存液含 $1 \times 10^6 \sim 1 \times 10^7$ 个活细胞/mL 分配到一个冻存管中将细胞分配到冻存管中, 标注好名称、代数、日期等信息。

3. 将要冻存的细胞置于程序降温盒中, -80 度冰箱中过夜, 之后转入液氮容器中储存。同时记录好冻存管在液氮容器中的位置以便后续查阅和使用。

