

## Cellules de l'EBR | 305019

## Informations générales

## Description

La lignée cellulaire RBE est une lignée cellulaire humaine de cholangiocarcinome intrahépatique (CC) dérivée d'une patiente de 64 ans. Cette lignée cellulaire a été établie parallèlement à une lignée sarcomatoïde (SSP-25) provenant du même nodule tumoral, mettant en évidence la coexistence de composants adénocarcinomeux et sarcomatoïdes au sein d'une même lésion de cholangiocarcinome intrahépatique. Les cellules de l'EBR se caractérisent par leur morphologie épithéliale, se développant en monocouche avec un aspect épithélial typique des cellules épithéliales.

Sur le plan phénotypique, la lignée cellulaire RBE exprime des marqueurs clés associés au cholangiocarcinome. Il s'agit notamment des cytokératines CK7 et CK19, de la gamma-glutamyl transpeptidase (GGT), de l'antigène carcinoembryonnaire (CEA), de l'antigène glucidique 19-9 (CA19-9) et de la vimentine. En outre, la production de mucine est détectée dans environ la moitié des cellules de l'EBR, comme le montre la coloration périodique acide-Schiff (PAS). Ces caractéristiques confirment l'origine adénocarcinomeuse des cellules RBE et les distinguent de la lignée cellulaire SSP-25, qui ne présente pas d'expression de CEA, de CA19-9 et de mucine.

**Organism** Humain

**Tissue** Canal biliaire

**Disease** Cholangiocarcinome intrahépatique

## Caractéristiques

**Age** 64 ans

**Gender** Femme

**Morphology** Épithéliale

**Growth properties** Adhérent

## Données réglementaires

**Citation** RBE (numéro de catalogue Cytion 305019)

**Biosafety level** 1

**NCBI\_TaxID** 9606

**CellSaurusAccession** CVCL\_4896

## Cellules de l'EBR | 305019

## Données biomoléculaires

## Manipulation

**Culture Medium** RPMI 1640, w : 2.0 mM Glutamine stable, w : 2.0 g/L NaHCO<sub>3</sub> (numéro d'article Cytion 820700a)

**Supplements** Compléter le milieu avec 10% de FBS

**Dissociation Reagent** Accutase

**Subculturing** Retirer l'ancien milieu des cellules adhérentes et les laver avec du PBS dépourvu de calcium et de magnésium. Pour les flacons T25, utiliser 3-5 ml de PBS, et pour les flacons T75, 5-10 ml. Ensuite, recouvrir complètement les cellules avec Accutase, en utilisant 1 à 2 ml pour les flacons T25 et 2,5 ml pour les flacons T75. Laisser les cellules incuber à température ambiante pendant 8-10 minutes pour les détacher. Après incubation, mélanger délicatement les cellules avec 10 ml de milieu pour les remettre en suspension, puis centrifuger à 300xg pendant 3 minutes. Jeter le surnageant, remettre les cellules en suspension dans du milieu frais et les transférer dans de nouveaux flacons contenant déjà du milieu frais.

**Split ratio** 1:2 à 1:4

**Fluid renewal** 2 à 3 fois par semaine

**Freeze medium** Comme milieu de cryoconservation, nous utilisons un milieu de croissance complet (comprenant du FBS) + 10 % de DMSO pour une viabilité adéquate après décongélation, ou CM-1 (numéro de catalogue 800100 de Cytion), qui comprend des osmoprotectants et des stabilisateurs métaboliques optimisés pour améliorer la récupération et réduire le stress induit par la cryogénéisation.

## Cellules de l'EBR | 305019

### Thawing and Culturing Cells

1. Confirmer que le flacon est toujours congelé à la livraison, car les cellules sont expédiées sur de la glace sèche pour maintenir des températures optimales pendant le transport.
2. Dès réception, soit conserver immédiatement le cryovial à des températures inférieures à -150°C pour assurer la préservation de l'intégrité cellulaire, soit passer à l'étape 3 si une mise en culture immédiate est nécessaire.
3. Pour une mise en culture immédiate, décongeler rapidement le flacon en l'immergeant dans un bain-marie à 37°C avec de l'eau propre et un agent antimicrobien, en l'agitant doucement pendant 40 à 60 secondes jusqu'à ce qu'il ne reste qu'un petit amas de glace.
4. Effectuer toutes les étapes suivantes dans des conditions stériles sous une hotte à flux, en désinfectant le cryovial avec de l'éthanol à 70 % avant de l'ouvrir.
5. Ouvrir soigneusement le flacon désinfecté et transférer la suspension cellulaire dans un tube à centrifuger de 15 ml contenant 8 ml de milieu de culture à température ambiante, en mélangeant doucement.
6. Centrifuger le mélange à 300 x g pendant 3 minutes pour séparer les cellules et jeter soigneusement le surnageant contenant le milieu de congélation résiduel.
7. Remettre doucement en suspension le culot cellulaire dans 10 ml de milieu de culture frais. Pour les cellules adhérentes, répartir la suspension entre deux flacons de culture T25 ; pour les cultures en suspension, transférer tout le milieu dans un seul flacon T25 afin de favoriser une interaction et une croissance efficaces des cellules.
8. Respecter les protocoles de sous-culture établis pour une croissance et un entretien continu de la lignée cellulaire, garantissant ainsi des résultats expérimentaux fiables.

### Incubation Atmosphere

37°C, 5%<sub>CO2</sub>, atmosphère humidifiée.

### Flask Coating

Pour une fixation et une viabilité optimales après décongélation, nous recommandons d'utiliser des **flacons ou des plaques recouverts de collagène**.

### Freezing Procedure

Les lignées cellulaires cryoconservées sont expédiées sur glace sèche dans des emballages isolés et validés, avec suffisamment de réfrigérant pour maintenir une température d'environ -78 °C tout au long du transport. À la réception, inspecter immédiatement le conteneur et transférer sans délai les flacons dans un lieu de stockage approprié.

## Cellules de l'EBR | 305019

### Shipping Conditions

Les lignées cellulaires cryoconservées sont expédiées sur glace sèche dans des emballages isolés et validés, avec suffisamment de réfrigérant pour maintenir une température d'environ -78 °C tout au long du transport. À la réception, inspecter immédiatement le conteneur et transférer sans délai les flacons dans un lieu de stockage approprié.

### Storage Conditions

Pour une conservation à long terme, placer les flacons dans de l'azote liquide en phase vapeur à une température comprise entre -150 et -196 °C environ. Le stockage à -80 °C n'est acceptable qu'en tant qu'étape intermédiaire de courte durée avant le transfert dans l'azote liquide.

## Contrôle de qualité / Profil génétique / HLA

### Sterility

La contamination par les mycoplasmes est exclue à l'aide de tests basés sur la PCR et de méthodes de détection des mycoplasmes basées sur la luminescence.

Pour s'assurer de l'absence de contamination bactérienne, fongique ou levurienne, les cultures cellulaires font l'objet d'inspections visuelles quotidiennes.