

## RBE šūnas | 305019

## Vispārīga informācija

## Description

RBE šūnu līnija ir cilvēka intrahepatālās holangiokarcinomas (CC) šūnu līnija, kas iegūta no 64 gadus vecas pacientes. Šī šūnu līnija tika izveidota kopā ar sarkomatoīdo ekvivalentu (SSP-25) no tā paša audzēja mezgla, uzsverot adenokarcinomas un sarkomatoīdo komponentu līdzāspastāvēšanu vienā CC bojājumā. RBE šūnām ir raksturīga epitēlija morfoloģija, tās aug kā monoslānis ar epitēlijām līdzīgu izskatu, kas raksturīgs epitēlija šūnām.

Fenotipiski RBE šūnu līnija ekspresē galvenos marķierus, kas saistīti ar holangiokarcinomu. Tie ietver citokeratīnus CK7 un CK19, gamma-glutamiltanspeptidāzi (GGT), karcīnoembrionālo antigēnu (CEA), ogļhidrāta antigēnu 19-9 (CA19-9) un vimentīnu. Turklāt aptuveni pusē RBE šūnu ir konstatēta mucīna veidošanās, ko pierāda periodiskās skābes-šīfa (PAS) krāsojums. Šīs pazīmes apstiprina RBE šūnu adenokarcinomas izcelsmi un atšķir tās no SSP-25 šūnu līnijas, kurā nav CEA, CA19-9 un mucīna ekspresijas.

## Organism

Cilvēks

## Tissue

Žultsvads

## Disease

Intrahepatiskā holangiokarcinoma

## Raksturojums

## Age

64 gadi

## Gender

Sievietes

## Morphology

Epitēlija

## Growth properties

Adherent

## Normatīvie dati

## Citation

RBE (Cytion kataloga numurs 305019)

## Biosafety level

1

## NCBI\_TaxID

9606

## CellosaurusAccession

CVCL\_4896

## RBE šūnas | 305019

## Biomolekulārie dati

## Darbs ar

**Culture Medium**RPMI 1640, w: 2,0 mM stabils glutamīns, w: 2,0 g/L NaHCO<sub>3</sub> (Cytion izstrādājuma numurs 820700a)**Supplements**

Papildināt barotni ar 10% FBS

**Dissociation Reagent**

Accutase

**Subculturing**

Noņemt veco barotni no pielipušajām šūnām un mazgāt tās ar PBS, kurā nav kalcija un magnija. T25 kolbām izmantojiet 3-5 ml PBS, bet T75 kolbām - 5-10 ml. Pēc tam pilnībā pārklājiet šūnas ar Accutase, izmantojot 1-2 ml T25 kolbām un 2,5 ml T75 kolbām. Ļaujiet šūnām inkubēties istabas temperatūrā 8-10 minūtes, lai tās atdalītos. Pēc inkubācijas uzmanīgi samaisiet šūnas ar 10 ml barotnes, lai tās atkārtoti suspendētu, pēc tam centrifugējiet 3 minūtes ar 300xg. Izmetiet supernatantu, atkārtoti suspendējiet šūnas svaigā barotnē un pārvietojiet tās jaunās kolbās, kurās jau ir svaiga barotne.

**Fluid renewal**

2 līdz 3 reizes nedēļā

**Freeze medium**

Kā kriokonservēšanas barotni mēs izmantojam pilnvērtīgu augšanas barotni (ieskaitot FBS) + 10 % DMSO, lai nodrošinātu pietiekamu dzīvotspēju pēc atkausēšanas, vai CM-1 (Cytion kataloga numurs 800100), kas ietver optimizētus osmoprotektorus un metaboliskos stabilizatorus, lai uzlabotu atveseļošanas un samazinātu krioinducēto stresu.

## RBE šūnas | 305019

### Thawing and Culturing Cells

1. Pārliecinieties, ka pēc piegādes flakons paliek dziļi sasaldēts, jo šūnas tiek sūtītas uz sausā ledus, lai pārvadāšanas laikā saglabātu optimālu temperatūru.
2. Pēc saņemšanas vai nu nekavējoties uzglabāt kriovialu temperatūrā, kas zemāka par -150 °C, lai nodrošinātu šūnu integritātes saglabāšanu, vai arī turpināt 3. posmu, ja nepieciešama tūlītēja kultivēšana.
3. Tūlītējas kultivēšanas gadījumā ātri atkausējiet flakonu, iegremdējot to 37°C ūdens vannā ar tīru ūdeni un antibakteriālu līdzekli, viegli maisot 40-60 sekundes, līdz paliek neliels ledus gabaliņš.
4. Visas turpmākās darbības veiciet sterilos apstākļos plūsmas nosūcējā, pirms atvēršanas dezinficējot kriovialu ar 70% etanolu.
5. Uzmanīgi atveriet dezinficēto flakonu un pārnesiet šūnu suspensiju 15 ml centrifūgas mēģenē, kurā ir 8 ml istabas temperatūras barotnes, uzmanīgi samaisot.
6. Centrifugējiet maisījumu ar 300 x g 3 minūtes, lai atdalītu šūnas, un uzmanīgi izmetiet virskārtu, kas satur saldēšanas barotnes atlikumus.
7. Viegli resuspendēt šūnu granulas 10 ml svaigas barotnes. Adhēzijas šūnu gadījumā suspensiju sadalīt divās T25 kolbās; suspensijas kultūrām visu barotni pārnest vienā T25 kolbā, lai veicinātu efektīvu šūnu mijiedarbību un augšanu.
8. Ievērojiet noteiktos subkultūru protokolus, lai nodrošinātu nepārtrauktu šūnu līnijas augšanu un uzturēšanu, tādējādi nodrošinot uzticamus eksperimentu rezultātus.

### Incubation Atmosphere

37°C, 5%  $\text{CO}_2$ , mitrināta atmosfēra.

### Flask Coating

Optimālai piestiprināšanai un dzīvotspējai pēc atkausēšanas ieteicams izmantot **ar kolagēnu pārklātas kolbas vai plates**.

### Freezing Procedure

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidrums daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

**RBE šūnas | 305019**

**Shipping  
Conditions**

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidrums daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

**Storage  
Conditions**

Ilgstošai uzglabāšanai flakonus ievietojiet šķidrā slāpekļī ar tvaika fāzi aptuveni -150 līdz -196 °C temperatūrā. Uzglabāšana -80 °C temperatūrā ir pieļaujama tikai kā īss starposms pirms pārvietošanas uz šķidro slāpekli.

**Kvalitātes kontrole / Ģenētiskais profils / HLA**

**Sterility**

Mikoplazmas piesārņojums tiek izslēgts, izmantojot gan uz PCR balstītus testus, gan uz luminiscenci balstītas mikoplazmas noteikšanas metodes.

Lai pārlicinātos, ka nav baktēriju, sēnīšu vai rauga piesārņojuma, šūnu kultūras katru dienu vizuāli pārbauda.