

## Клітини RBE | 305019

## Загальна інформація

## Description

Клітинна лінія RBE - це клітинна лінія внутрішньопечінкової холангіокарциноми (ХК) людини, отримана від 64-річної пацієнтки. Ця клітинна лінія була створена разом із саркоматоїдним аналогом (SSP-25) з того ж пухлинного вузла, що підкреслює співіснування аденокарциноми та саркоматоїдного компонента в межах одного ураження ХК. Клітини RBE характеризуються епітеліальною морфологією, ростуть у вигляді моношару з епітеліоподібним виглядом, що характерно для епітеліальних клітин.

Фенотипічно клітини лінії RBE експресують ключові маркери, пов'язані з холангіокарциномою. До них відносяться цитокератини CK7 і CK19, гамма-глутамілтранспептидаза (GGT), карциномембріональний антиген (CEA), вуглеводний антиген 19-9 (CA19-9) і віментин. Крім того, приблизно в половині клітин RBE виявляється продукція муцину, про що свідчить періодичне забарвлення за кислотою Шиффа (PAS). Ці особливості підтверджують аденокарциноматозне походження клітин RBE і відрізняють їх від клітинної лінії SSP-25, в якій відсутня експресія CEA, CA19-9 і муцину.

**Organism** Людина

**Tissue** Жовчна протока

**Disease** Внутрішньопечінкова холангіокарцинома

## Характеристики

**Age** 64 роки

**Gender** Жінка

**Morphology** Епітеліальний

**Growth properties** Адепт

## Нормативні дані

**Citation** RBE (номер за каталогом Cytion 305019)

**Biosafety level** 1

**NCBI\_TaxID** 9606

**CellosaurusAccession** CVCL\_4896

## Клітини RBE | 305019

## Біомолекулярні дані

## Обробка

**Culture Medium**RPMI 1640, w: 2,0 mM стабільний глютамін, w: 2,0 г/л NaHCO<sub>3</sub> (номер за каталожним номером 820700a)**Supplements**

Додайте до середовища 10% FBS

**Dissociation Reagent**

Аккутаза

**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.

**Split ratio**

від 1:2 до 1:4

**Fluid renewal**

2-3 рази на тиждень

**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.

## Клітини RBE | 305019

### 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  $-150^{\circ}\text{C}$ , щоб забезпечити збереження клітинної цілісності, або перейдіть до кроку 3, якщо потрібне негайне культивування.
3. Для негайного культивування швидко розморозьте віал, зануливши його у водяну баню з чистою водою і антимікробним засобом при температурі  $37^{\circ}\text{C}$ , 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  $300 \times g$  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. Дотримуйтеся встановлених протоколів субкультивування для продовження росту і підтримання клітинної лінії, забезпечуючи надійні результати експерименту.

### Incubation Atmosphere

$37^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , волога атмосфера.

### Flask Coating

Ні

### Freezing Procedure

Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевірній ізольованій упаковці з достатньою кількістю холодоагенту для підтримання температури приблизно  $-78^{\circ}\text{C}$  під час транспортування. При отриманні негайно огляньте контейнер і негайно перемістіть віали у відповідне місце для зберігання.

## Клітини RBE | 305019

### Shipping Conditions

Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевірній 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.

### 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 / Генетичний профіль / HLA

### Sterility

Зараження мікоплазмою виключається за допомогою аналізів на основі ПЛР та люмінесцентних методів виявлення мікоплазми.

Щоб переконатися у відсутності бактеріального, грибового або дріжджового забруднення, клітинні культури піддаються щоденному візуальному контролю.