Product sheet

Клетки RBL-2H3 | 305194

Обща информация

Description	Клетъчната линия RBL-2H3 се е превърнала в ценен инструмент за изучаване на физиологията на мастоцитите. Клетките RBL-2H3 експресират плъхова мастоцитна протеаза II (RMCP-II) и рецепторната тирозин киназа c-kit, което ги прави потенциален модел за мастоцити. Въпреки това са докладвани противоречиви и понякога подвеждащи данни за клетките RBL-2H3. Клетките RBL-2H3 са широко използвани за изследване на различни аспекти на функцията на мастоцитите, включително дегранулация, стабилизатори на мастоцитите и взаимодействие на рецепторите FceRI с цитоскелета. Те експресират високоафинитетни IgE рецептори и могат да бъдат активирани да секретират хистамин и други медиатори. Култивирането на RBL-2H3 клетки е сравнително лесно, а по-дългото време на култивиране води до по-висока клетъчна плътност. Дегранулацията е ключова характеристика на RBL-2H3 клетките, подобно на мастоцитите и базофилите. Когато алергените пресекат техните IgE-свързани FceRI рецептори, RBL-2H3 клетките освобождават предварително подготвени и новосинтезирани медиатори, допринасяйки за имунните алергични реакции. Дегранулацията на RBL-2H3 клетките е дала представа и за дегранулацията на базофилите. Тези клетки могат да претърпят дегранулация и в отговор на неимунологични стимули, като съществуват разлики между MMC, RBL-2H3 и CTMC. Ролята на калция в дегранулацията на RBL-2H3 клетките е значителна. Калциевият йонофор A23187, който повишава вътреклетъчните нива на калция, предизвиква дегранулация в RBL-2H3 клетките, подобно на мастоцитите и базофилите. Някои изследвания описват RBL-2H3 клетките като клетъчна линия, освобождаваща серотонин.
Organism	Плъх
Tissue	Периферна кръв
Disease	Левкемия при плъхове
Synonyms	RBL2H3, RBL 2H3, RBL.2H3

Характеристики

Breed/Subspecies	Wistar
Morphology	Фибробласти
Growth properties	Придържащи се

Регулаторни данни

Клетки RBL-2H3 | 305194

Citation	RBL-2H3 (каталожен номер 305194 на Cytion)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	10116
CellosaurusAccession	CVCL_0591

Биомолекулярни данни

Работа с

Culture Medium	EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamine, w: 2,2 g/L NaHCO3, w: EBSS (номер на статията в Cytion 820100a)
Supplements	Допълнете средата с 10% FBS и 1% NEAA
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Отстранете старата среда от адхезивните клетки и ги промийте с PBS, която не съдържа калций и магнезий. За колби T25 използвайте 3-5 ml PBS, а за колби T75 - 5-10 ml. След това покрийте клетките изцяло с Accutase, като използвате 1-2 ml за колби T25 и 2,5 ml за колби T75. Оставете клетките да се инкубират на стайна температура за 8-10 минути, за да се отделят. След инкубацията внимателно разбъркайте клетките с 10 ml среда, за да ги ресуспендирате, след което центрофугирайте при 300xg за 3 минути. Изхвърлете супернатантата, ресуспендирайте клетките в прясна среда и ги прехвърлете в нови колби, които вече съдържат прясна среда.
Fluid renewal	2 до 3 пъти седмично
Freeze medium	Като среда за криоконсервация използваме пълна среда за растеж (включително FBS) + 10% DMSO за адекватна жизнеспособност след размразяване или CM-1 (каталожен номер 800100 на Cytion), която включва оптимизирани осмопротектори и метаболитни стабилизатори за подобряване на възстановяването и намаляване на криоиндуцирания стрес.

Клетки RBL-2H3 | 305194

Thawing and Culturing Cells

1. Уверете се, че флаконът остава дълбоко замразен при доставката, тъй като клетките се транспортират със сух лед, за да се поддържат оптимални температури по време на транспортирането.

2. При получаване или съхранявайте незабавно криовиолата при температури под -150 °C, за да осигурите запазване на клетъчната цялост, или преминете към стъпка 3, ако е необходимо незабавно култивиране.

3. За незабавно култивиране бързо размразете флакона, като го потопите във водна баня с чиста вода и антимикробен агент с температура 37 °C, като разбърквате внимателно в продължение на 40-60 секунди, докато остане малка ледена бучка.

4. Извършвайте всички следващи стъпки при стерилни условия в аспиратор, като преди отваряне дезинфекцирате криовиолата със 70% етанол.

5. Внимателно отворете дезинфекцирания флакон и прехвърлете клетъчната суспензия в 15 ml центрофужна епруветка, съдържаща 8 ml хранителна среда със стайна температура, като разбъркате внимателно.

6. Центрофугирайте сместа при 300 x g в продължение на 3 минути, за да отделите клетките, и внимателно изхвърлете супернатантата, съдържаща остатъчна замразяваща среда.

7. Внимателно ресуспендирайте клетъчната пелета в 10 ml прясна хранителна среда. За адхезивни клетки разделете суспензията между две колби T25; за суспензионни култури прехвърлете цялата среда в една колба T25, за да стимулирате ефективното взаимодействие и растеж на клетките.

8. Придържайте се към установените протоколи за субкултивиране за непрекъснат растеж и поддържане на клетъчната линия, като гарантирате надеждни експериментални резултати.

Incubation Atmosphere

37°C, 5%$_{CO2}$, овлажнена атмосфера.

Flask Coating

За оптимално прикрепване и жизнеспособност след размразяване препоръчваме да се използват **колби или плаки с колагеново покритие**.

Freezing Procedure

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително -78 °C по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

Клетки RBL-2H3 | 305194

Shipping Conditions	Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително -78 °C по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.
Storage Conditions	За дълготрайно съхранение поставете флаконите в течен азот в парна фаза при температура около -150 до -196 °C. Съхранението при -80 °C е приемливо само като кратък междинен етап преди прехвърлянето в течен азот.

Контрол на качеството / Генетичен профил / HLA

Sterility	Замърсяването с микоплазма се изключва както чрез PCR-базирани анализи, така и чрез луминесцентни методи за откриване на микоплазма. За да се гарантира, че няма бактериално, гъбично или дрождево замърсяване, клетъчните култури се подлагат на ежедневни визуални проверки.