

Buňky RBL-2H3 | 305194**Obecné informace****Description**

Buněčná linie RBL-2H3 se stala cenným nástrojem pro studium fyziologie žírných buněk. Buňky RBL-2H3 exprimují kryší mastocytární proteázu II (RMCP-II) a receptorovou tyrozinkinázu c-kit, což z nich činí potenciální model mastocytů. O buňkách RBL-2H3 však byly hlášeny rozporuplné a někdy zavádějící údaje.

Buňky RBL-2H3 byly široce používány ke zkoumání různých aspektů funkce žírných buněk, včetně degranulace, stabilizátorů žírných buněk a interakce receptorů FcεRI s cytoskeletem. Exprimují vysokoafinitní IgE receptory a mohou být aktivovány k sekreci histaminu a dalších mediátorů. Kultivace buněk RBL-2H3 je poměrně snadná a delší doba kultivace vede k vyšší hustotě buněk.

Klíčovou vlastností buněk RBL-2H3 je degranulace, podobně jako u žírných buněk a bazofilů. Když alergeny zesílují jejich receptory FcεRI vázané na IgE, buňky RBL-2H3 uvolňují předem připravené a nově syntetizované mediátory, což přispívá k imunitním alergickým reakcím. Degranulace buněk RBL-2H3 umožnila nahlédnout také do degranulace bazofilů. Tyto buňky mohou degranulovat i v reakci na neimunologické podněty a mezi MMC, RBL-2H3 a CTMC existují rozdíly.

Významná je úloha vápníku při degranulaci buněk RBL-2H3. Ionofor vápníku A23187, který zvyšuje intracelulární hladinu vápníku, vyvolává degranulaci u buněk RBL-2H3, podobně jako u žírných buněk a bazofilů. Některé studie popisují buňky RBL-2H3 jako buněčnou linii uvolňující serotonin.

Organism

Krysy

Tissue

Periferní krev

Disease

Leukémie potkanů

Synonyms

RBL2H3, RBL 2H3, RBL.2H3

Charakteristika**Breed/Subspecies**

Wistar

Morphology

Fibroblasty

Growth properties

Adherentní

Regulační údaje**Citation**

RBL-2H3 (katalogové číslo Cytion 305194)

Biosafety level

1

Buňky RBL-2H3 | 305194**NCBI_TaxID** 10116**CellosaurusAccession** CVCL_0591**Biomolekulární data****Zpracování****Culture Medium** EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamin, w: 2,2 g/l NaHCO₃, w: EBSS (číslo článku Cytion 820100a)**Supplements** Doplňte médium o 10 % FBS a 1 % NEAA**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Odstraňte staré médium z adherovaných buněk a promyjte je PBS bez vápníku a hořčíku. Pro baňky T25 použijte 3-5 ml PBS a pro baňky T75 5-10 ml. Poté buňky zcela zakryjte přípravkem Accutase, přičemž použijte 1-2 ml pro baňky T25 a 2,5 ml pro baňky T75. Nechte buňky inkubovat při pokojové teplotě po dobu 8-10 minut, aby se oddělily. Po inkubaci jemně promíchejte buňky s 10 ml média, aby byly znovu suspendovány, a poté je odstředte při 300xg po dobu 3 minut. Supernatant vyhodte, buňky znovu rozpusťte v čerstvém médiu a přeneste je do nových baněk, které již obsahují čerstvé médium.**Split ratio** 1:2 až 1:4**Fluid renewal** 2 až 3krát týdně**Freeze medium** Jako kryokonzervační médium používáme kompletní růstové médium (včetně FBS) + 10 % DMSO pro zajištění dostatečné životaschopnosti po rozmrazení nebo CM-1 (katalogové číslo 800100 společnosti Cytion), které obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory pro zlepšení regenerace a snížení stresu způsobeného kryo.

Buňky RBL-2H3 | 305194**Thawing and
Culturing Cells**

1. Ověřte si, že lahvička zůstane při dodání hluboce zmrazená, protože buňky se přepravují na suchém ledu, aby se během přepravy udržely optimální teploty.
2. Po obdržení kryovialku buď okamžitě uložte při teplotě nižší než -150 °C, abyste zajistili zachování buněčné integrity, nebo přejděte ke kroku 3, pokud je nutná okamžitá kultivace.
3. Pro okamžitou kultivaci rychle rozmrazte lahvičku ponořením do vodní lázně o teplotě 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálním prostředkem a jemně ji míchejte po dobu 40-60 sekund, dokud nezůstane malý ledový chuchvalec.
4. Všechny další kroky provádějte za sterilních podmínek v průtokové digestoři a před otevřením kryovialku dezinfikujte 70% ethanolem.
5. Opatrně otevřete dezinfikovanou lahvičku a přeneste buněčnou suspenzi do 15 ml centrifugační zkumavky obsahující 8 ml kultivačního média o pokojové teplotě a jemně promíchejte.
6. Směs odstředujte při 300 x g po dobu 3 minut, aby se buňky oddělily, a supernatant obsahující zbytky mrazicího média opatrně zlikvidujte.
7. Pelety buněk jemně resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačního média. U adherentních buněk rozdělte suspenzi mezi dvě kultivační baňky T25; u suspenzních kultur přeneste veškeré médium do jedné baňky T25, abyste podpořili účinnou interakci a růst buněk.
8. Dodržujte zavedené subkultivační protokoly pro kontinuální růst a udržování buněčné linie, čímž zajistíte spolehlivé výsledky experimentů.

**Incubation
Atmosphere**

37 °C, 5 % CO_2 , zvlhčená atmosféra.

Flask Coating

Žádný

**Freezing
Procedure**

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

**Shipping
Conditions**

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

Buňky RBL-2H3 | 305194

Storage Conditions

Pro dlouhodobé uchování umístěte lahvičky do kapalného dusíku v plynné fázi při teplotě přibližně -150 až -196 °C. Skladování při -80 °C je přijatelné pouze jako krátký přechodný krok před přemístěním do kapalného dusíku.

Kontrola kvality / Genetický profil / HLA

Sterility

Kontaminace mykoplazmaty je vyloučena jak pomocí testů založených na PCR, tak pomocí luminiscenčních metod detekce mykoplazmy.

Aby se zajistilo, že nedojde ke kontaminaci bakteriemi, plísněmi nebo kvasinkami, jsou buněčné kultury denně podrobovány vizuálním kontrolám.