

RBL-2H3-celler | 305194**Generel information****Description**

RBL-2H3-cellelinjen er blevet et værdifuldt værktøj til at studere mastcellefysiologi. RBL-2H3-celler udtrykker rotte-mastcelleprotease II (RMCP-II) og c-kit-receptortyrosinkinase, hvilket gør dem til en potentiel model for mastceller. Der er dog rapporteret modstridende og til tider misvisende data om RBL-2H3-celler.

RBL-2H3-celler er i vid udstrækning blevet brugt til at undersøge forskellige aspekter af mastcellefunktionen, herunder degranulering, mastcellestabilisatorer og FcεRI-receptorernes interaktion med cytoskelettet. De udtrykker IgE-receptorer med høj affinitet og kan aktiveres til at udskille histamin og andre mediatorer. Det er relativt nemt at dyrke RBL-2H3-celler, og længere dyrkningstider resulterer i højere celletæthed.

Degranulering er et vigtigt træk ved RBL-2H3-celler, ligesom ved mastceller og basofiler. Når allergener krydsbinder deres IgE-bundne FcεRI-receptorer, frigiver RBL-2H3-celler præformede og nysyntetiserede mediatorer, der bidrager til allergiske immunreaktioner. Degranuleringen af RBL-2H3-celler har også givet indsigt i basofil degranulering. Disse celler kan også undergå degranulering som reaktion på ikke-immunologiske stimuli, og der er forskelle mellem MMC, RBL-2H3 og CTMC.

Calcium spiller en vigtig rolle i degranuleringen af RBL-2H3-celler. Calciumionoforen A23187, som øger det intracellulære calciumniveau, inducerer degranulering i RBL-2H3-celler i lighed med mastceller og basofiler. Nogle studier har beskrevet RBL-2H3-celler som en serotonin-frigørende cellelinje.

Organism

Rotte

Tissue

Perifert blod

Disease

Leukæmi hos rotter

Synonyms

RBL2H3, RBL 2H3, RBL.2H3

Karakteristika**Breed/Subspecies**

Wistar

Morphology

Fibroblast

Growth properties

Vedhæftende

Regulatoriske data**Citation**

RBL-2H3 (Cytion katalognummer 305194)

Biosafety level

1

RBL-2H3-celler | 305194**NCBI_TaxID** 10116**CellosaurusAccession** CVCL_0591**Biomolekylære data****Håndtering****Culture Medium** EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamin, w: 2,2 g/L NaHCO₃, w: EBSS (Cytion artikelnummer 820100a)**Supplements** Suppler mediet med 10% FBS og 1% NEAA**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Fjern det gamle medium fra de klæbende celler, og vask dem med PBS, der ikke indeholder calcium og magnesium. Brug 3-5 ml PBS til T25-kolber og 5-10 ml til T75-kolber. Dæk derefter cellerne helt med Accutase, brug 1-2 ml til T25-kolber og 2,5 ml til T75-kolber. Lad cellerne inkubere ved stuetemperatur i 8-10 minutter for at løsne dem. Efter inkubationen blandes cellerne forsigtigt med 10 ml medium for at resuspendere dem, og centrifugeres derefter ved 300xg i 3 minutter. Kassér supernatanten, resuspend cellerne i frisk medium, og overfør dem til nye kolber, der allerede indeholder frisk medium.**Split ratio** 1:2 til 1:4**Fluid renewal** 2 til 3 gange om ugen**Freeze medium** Som kryopræservationsmedium bruger vi komplet vækstmedium (inklusive FBS) + 10 % DMSO for tilstrækkelig levedygtighed efter optøning eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som indeholder optimerede osmobeskyttende stoffer og metaboliske stabilisatorer for at forbedre genopretningen og reducere kryo-induceret stress.

RBL-2H3-celler | 305194

Thawing and Culturing Cells

1. Bekræft, at hætteglasset forbliver dybfrosset ved levering, da cellerne sendes på tøris for at opretholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved modtagelsen skal du enten straks opbevare kryohætteglasset ved temperaturer under $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ for at sikre, at cellernes integritet bevares, eller gå videre til trin 3, hvis øjeblikkelig dyrkning er påkrævet.
3. Ved øjeblikkelig dyrkning optøs hætteglasset hurtigt ved at nedsænke det i et $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ varmt vandbad med rent vand og et antimikrobielt middel og røre forsigtigt i 40-60 sekunder, indtil der kun er en lille isklump tilbage.
4. Udfør alle efterfølgende trin under sterile forhold i en flowhætte, og desinficer kryovialet med 70 % ethanol, før det åbnes.
5. Åbn forsigtigt det desinficerede hætteglas, og overfør cellesuspensionen til et 15 ml centrifugerør, der indeholder 8 ml kulturmedium ved stuetemperatur, og bland forsigtigt.
6. Centrifuger blandingen ved $300 \times g$ i 3 minutter for at adskille cellerne, og kassér omhyggeligt supernatanten, der indeholder resterende frysemedium.
7. Resuspender forsigtigt cellepelleten i 10 ml frisk dyrkningsmedium. For klæbende celler deles suspensionen mellem to T25-kulturkolber; for suspensionskulturer overføres alt mediet til en T25-kolbe for at fremme effektiv celleinteraktion og -vækst.
8. Overhold etablerede subkulturprotokoller for fortsat vækst og vedligeholdelse af cellelinjen, hvilket sikrer pålidelige eksperimentelle resultater.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , befugtet atmosfære.

Flask Coating

Ingen

Freezing Procedure

Kryopræservede cellelinjer sendes på tøris i valideret, isoleret emballage med tilstrækkeligt kølemiddel til at opretholde ca. $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hele transporten. Ved modtagelse skal beholderen straks inspiceres, og hætteglassene skal straks overføres til passende opbevaring.

Shipping Conditions

Kryopræservede cellelinjer sendes på tøris i valideret, isoleret emballage med tilstrækkeligt kølemiddel til at opretholde ca. $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hele transporten. Ved modtagelse skal beholderen straks inspiceres, og hætteglassene skal straks overføres til passende opbevaring.

RBL-2H3-celler | 305194

**Storage
Conditions**

For langtidsopbevaring anbringes hætteglas i flydende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Opbevaring ved -80 °C er kun acceptabelt som et kort mellemtrin før overførsel til flydende nitrogen.

Kvalitetskontrol / Genetisk profil / HLA

Sterility

Mycoplasma-kontaminering udelukkes ved hjælp af både PCR-baserede assays og luminescensbaserede mycoplasma-detektionsmetoder.

For at sikre, at der ikke er nogen bakterie-, svampe- eller gærforurening, underkastes cellekulturerne daglige visuelle inspektioner.