

Cellules RBL-2H3 | 305194**Informations générales****Description**

La lignée cellulaire RBL-2H3 est devenue un outil précieux pour l'étude de la physiologie des mastocytes. Les cellules RBL-2H3 expriment la protéase II des mastocytes de rat (RMCP-II) et le récepteur tyrosine kinase c-kit, ce qui en fait un modèle potentiel pour les mastocytes. Cependant, des données contradictoires et parfois trompeuses ont été rapportées sur les cellules RBL-2H3.

Les cellules RBL-2H3 ont été largement utilisées pour étudier divers aspects de la fonction des mastocytes, notamment la dégranulation, les stabilisateurs de mastocytes et l'interaction des récepteurs FcεRI avec le cytosquelette. Ils expriment des récepteurs IgE de haute affinité et peuvent être activés pour sécréter de l'histamine et d'autres médiateurs. La culture des cellules RBL-2H3 est relativement facile, et des temps de culture plus longs permettent d'obtenir une densité cellulaire plus élevée.

La dégranulation est une caractéristique clé des cellules RBL-2H3, similaire à celle des mastocytes et des basophiles. Lorsque les allergènes réticulent leurs récepteurs FcεRI liés aux IgE, les cellules RBL-2H3 libèrent des médiateurs préformés et nouvellement synthétisés, contribuant ainsi aux réponses immunitaires allergiques. La dégranulation des cellules RBL-2H3 a également permis de mieux comprendre la dégranulation des basophiles. Ces cellules peuvent également dégranuler en réponse à des stimuli non immunologiques, et il existe des différences entre MMC, RBL-2H3 et CTMC.

Le rôle du calcium dans la dégranulation des cellules RBL-2H3 est important. L'ionophore calcique A23187, qui augmente les niveaux de calcium intracellulaire, induit une dégranulation dans les cellules RBL-2H3, similaire à celle des mastocytes et des basophiles. Certaines études ont décrit les cellules RBL-2H3 comme une lignée cellulaire libérant de la sérotonine.

Organism

Rat

Tissue

Sang périphérique

Disease

Leucémie du rat

Synonyms

RBL2H3, RBL 2H3, RBL.2H3

Caractéristiques**Breed/Subspecies**

Wistar

Morphology

Fibroblaste

Growth properties

Adhérent

Données réglementaires

Cellules RBL-2H3 | 305194**Citation** RBL-2H3 (numéro de catalogue Cytion 305194)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 10116**CellosaurusAccession** CVCL_0591**Données biomoléculaires****Manipulation****Culture Medium** EMEM (MEM Eagle), w : 2 mM L-Glutamine, w : 2.2 g/L NaHCO₃, w : EBSS (numéro d'article Cytion 820100a)**Supplements** Compléter le milieu avec 10 % de FBS et 1 % de NEAA**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Retirer l'ancien milieu des cellules adhérentes et les laver avec du PBS dépourvu de calcium et de magnésium. Pour les flacons T25, utiliser 3-5 ml de PBS, et pour les flacons T75, 5-10 ml. Ensuite, recouvrir complètement les cellules avec Accutase, en utilisant 1 à 2 ml pour les flacons T25 et 2,5 ml pour les flacons T75. Laisser les cellules incuber à température ambiante pendant 8-10 minutes pour les détacher. Après incubation, mélanger délicatement les cellules avec 10 ml de milieu pour les remettre en suspension, puis centrifuger à 300xg pendant 3 minutes. Jeter le surnageant, remettre les cellules en suspension dans du milieu frais et les transférer dans de nouveaux flacons contenant déjà du milieu frais.**Split ratio** 1:2 à 1:4**Fluid renewal** 2 à 3 fois par semaine**Freeze medium** Comme milieu de cryoconservation, nous utilisons un milieu de croissance complet (comprenant du FBS) + 10 % de DMSO pour une viabilité adéquate après décongélation, ou CM-1 (numéro de catalogue 800100 de Cytion), qui comprend des osmoprotectants et des stabilisateurs métaboliques optimisés pour améliorer la récupération et réduire le stress induit par la cryogénéisation.

Cellules RBL-2H3 | 305194

Thawing and Culturing Cells

1. Confirmer que le flacon est toujours congelé à la livraison, car les cellules sont expédiées sur de la glace sèche pour maintenir des températures optimales pendant le transport.
2. Dès réception, soit conserver immédiatement le cryovial à des températures inférieures à -150°C pour assurer la préservation de l'intégrité cellulaire, soit passer à l'étape 3 si une mise en culture immédiate est nécessaire.
3. Pour une mise en culture immédiate, décongeler rapidement le flacon en l'immergeant dans un bain-marie à 37°C avec de l'eau propre et un agent antimicrobien, en l'agitant doucement pendant 40 à 60 secondes jusqu'à ce qu'il ne reste qu'un petit amas de glace.
4. Effectuer toutes les étapes suivantes dans des conditions stériles sous une hotte à flux, en désinfectant le cryovial avec de l'éthanol à 70 % avant de l'ouvrir.
5. Ouvrir soigneusement le flacon désinfecté et transférer la suspension cellulaire dans un tube à centrifuger de 15 ml contenant 8 ml de milieu de culture à température ambiante, en mélangeant doucement.
6. Centrifuger le mélange à 300 x g pendant 3 minutes pour séparer les cellules et jeter soigneusement le surnageant contenant le milieu de congélation résiduel.
7. Remettre doucement en suspension le culot cellulaire dans 10 ml de milieu de culture frais. Pour les cellules adhérentes, répartir la suspension entre deux flacons de culture T25 ; pour les cultures en suspension, transférer tout le milieu dans un seul flacon T25 afin de favoriser une interaction et une croissance efficaces des cellules.
8. Respecter les protocoles de sous-culture établis pour une croissance et un entretien continus de la lignée cellulaire, garantissant ainsi des résultats expérimentaux fiables.

Incubation Atmosphere

37°C, 5%_{CO2}, atmosphère humidifiée.

Flask Coating

Aucun

Freezing Procedure

Les lignées cellulaires cryoconservées sont expédiées sur glace sèche dans des emballages isolés et validés, avec suffisamment de réfrigérant pour maintenir une température d'environ -78 °C tout au long du transport. À la réception, inspecter immédiatement le conteneur et transférer sans délai les flacons dans un lieu de stockage approprié.

Cellules RBL-2H3 | 305194

Shipping Conditions

Les lignées cellulaires cryoconservées sont expédiées sur glace sèche dans des emballages isolés et validés, avec suffisamment de réfrigérant pour maintenir une température d'environ -78 °C tout au long du transport. À la réception, inspecter immédiatement le conteneur et transférer sans délai les flacons dans un lieu de stockage approprié.

Storage Conditions

Pour une conservation à long terme, placer les flacons dans de l'azote liquide en phase vapeur à une température comprise entre -150 et -196 °C environ. Le stockage à -80 °C n'est acceptable qu'en tant qu'étape intermédiaire de courte durée avant le transfert dans l'azote liquide.

Contrôle de qualité / Profil génétique / HLA

Sterility

La contamination par les mycoplasmes est exclue à l'aide de tests basés sur la PCR et de méthodes de détection des mycoplasmes basées sur la luminescence.

Pour s'assurer de l'absence de contamination bactérienne, fongique ou levurienne, les cultures cellulaires font l'objet d'inspections visuelles quotidiennes.