

RBL-2H3 sejtek | 305194

Általános információk

Description

Az RBL-2H3 sejtvonal értékes eszközzé vált a hízósejtek fiziológiájának tanulmányozására. Az RBL-2H3 sejtek patkány hízósejt proteáz II-t (RMCP-II) és a c-kit receptor tirozinkináz expresszálják, így a hízósejtek potenciális modelljévé válnak. Az RBL-2H3 sejtekről azonban ellentmondásos és néha félrevezető adatokról számoltak be.

Az RBL-2H3 sejteket széles körben használták a hízósejtek működésének különböző aspektusainak vizsgálatára, beleértve a degranulációt, a hízósejt-stabilizátorokat és az FcεRI receptorok és a citoszkeleton kölcsönhatását. Nagy affinitású IgE-receptorokat expresszálnak, és aktiválhatók hisztamin és más mediátorok szekréciójára. Az RBL-2H3 sejtek tenyésztése viszonylag egyszerű, és a hosszabb tenyésztési idő nagyobb sejtsűrűséget eredményez.

A degranuláció az RBL-2H3 sejtek egyik fő jellemzője, hasonlóan a hízósejtekhez és a bazofilokhoz. Amikor az allergének keresztetik IgE-hez kötött FcεRI-receptorokat, az RBL-2H3 sejtek előre kialakított és újonnan szintetizált mediátorokat szabadítanak fel, hozzájárulva az immunallergiás válaszhoz. Az RBL-2H3 sejtek degranulációja betekintést nyújtott a bazofil degranulációba is. Ezek a sejtek nem immunológiai ingerek hatására is degranulálódhatnak, és különbségek vannak az MMC, az RBL-2H3 és a CTMC között.

A kalcium szerepe az RBL-2H3 sejtek degranulációjában jelentős. Az intracelluláris kalciumszintet növelő A23187 kalciumionofór az RBL-2H3 sejtekben a hízósejtekhez és a bazofilokhoz hasonlóan degranulációt indukál. Egyes tanulmányok az RBL-2H3 sejteket szerotonin-felszabadító sejtvonalként írták le.

Organism	Patkány
Tissue	Perifériás vér
Disease	Patkány leukémia
Synonyms	RBL2H3, RBL 2H3, RBL.2H3

Jellemzők

Breed/Subspecies	Wistar
Morphology	Fibroblasztok
Growth properties	Adherent

Szabályozási adatok

Citation	RBL-2H3 (Cytion katalógusszám: 305194)
Biosafety level	1

RBL-2H3 sejtek | 305194**NCBI_TaxID** 10116**CellosaurusAccession** CVCL_0591**Biomolekuláris adatok****A kezelése****Culture Medium** EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamin, w: 2,2 g/L NaHCO₃, w: EBSS (Cytion cikkszám: 820100a)**Supplements** A táptalajt 10% FBS-szel és 1% NEAA-val kell kiegészíteni**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Távolítsa el a régi táptalajt a megtapadt sejtekről, és mossa őket kalcium- és magnéziummentes PBS-szel. T25-ös lombikokhoz 3-5 ml PBS-t, T75-ös lombikokhoz pedig 5-10 ml-t használjunk. Ezután fedjük be a sejteket teljesen Accutase-zal, T25 lombikok esetében 1-2 ml-t, T75 lombikok esetében 2,5 ml-t használva. A sejteket 8-10 percre hagyjuk szobahőmérsékleten inkubálni, hogy leváljanak. Az inkubálás után óvatosan keverjük össze a sejteket 10 ml tápfolyadékkal, hogy reszuszpendáljuk őket, majd centrifugáljuk 300xg-nél 3 percre. Dobja el a felülúszót, szuszpendálja újra a sejteket friss tápfolyadékban, és helyezze át őket új lombikokba, amelyek már friss tápfolyadékot tartalmaznak.**Split ratio** 1:2–1:4**Fluid renewal** hetente 2-3 alkalommal**Freeze medium** Krioprezerváló táptalajként teljes növekedési táptalajt (beleértve az FBS-t) + 10% DMSO-t használunk a megfelelő kiolvasztás utáni életképesség érdekében, vagy CM-1-et (Cytion katalógusszám: 800100), amely optimalizált ozmoprotektánsokat és metabolikus stabilizátorokat tartalmaz a regenerálódás fokozása és a krio-indukált stressz csökkentése érdekében.

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

1. Ellenőrizze, hogy az injekciós üveg a szállításkor mélyhűtött marad-e, mivel a sejteket szárazjégen szállítják, hogy a szállítás során az optimális hőmérsékletet fenntartsák.
2. Átvételt követően vagy azonnal tárolja a krioampullát $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ alatti hőmérsékleten a sejtek integritásának megőrzése érdekében, vagy folytassa a 3. lépéssel, ha azonnali tenyésztésre van szükség.
3. Azonnali tenyésztés esetén gyorsan fel kell olvasztani az injekciós üveget úgy, hogy tiszta vízzel és antimikrobiális szerrel ellátott $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ -os vízfürdőbe merítjük, és 40-60 másodpercig óvatosan kevergetjük, amíg egy kis jégcsomó nem marad.
4. Az összes további lépést steril körülmények között, áramlásos elszívóban végezzük el, és nyitás előtt fertőtlenítsük a kriofülkét 70%-os etanollal.
5. Óvatosan nyissa fel a fertőtlenített fiolát, és a sejtuszpenziót óvatosan összekeverve helyezze át egy 15 ml-es centrifugacsőbe, amely 8 ml szobahőmérsékletű táptalajt tartalmaz.
6. Centrifugáljuk az elegyet $300 \times g$ -n 3 percig a sejtek szétválasztásához, és óvatosan dobjuk el a maradék fagyasztóközeget tartalmazó felülúszót.
7. Óvatosan szuszpendáljuk újra a sejt pelletet 10 ml friss táptalajban. Adhezív sejtek esetében ossza a szuszpenziót két T25-ös tenyésztőlombik között; szuszpenziós kultúrák esetében az összes tápfolyadékot tegye át egy T25-ös lombikba a hatékony sejtkölcsönhatás és növekedés elősegítése érdekében.
8. A sejt vonal folyamatos növekedése és fenntartása érdekében tartsa be a megállapított szubkultúra protokollokat, biztosítva a megbízható kísérleti eredményeket.

**Incubation
Atmosphere**

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , párasított légkör.

Flask Coating

Nincs

**Freezing
Procedure**

A kriokonzervált sejt vonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ -on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

**Shipping
Conditions**

A kriokonzervált sejt vonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ -on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

RBL-2H3 sejtek | 305194

Storage Conditions

Hosszú távú tartósítás céljából helyezze az üvegeket gőzfázisú folyékony nitrogénbe, körülbelül -150 és -196 °C közötti hőmérsékleten. A -80 °C-on történő tárolás csak rövid átmeneti lépésként fogadható el a folyékony nitrogénbe való átvitel előtt.

Minőségellenőrzés / Genetikai profil / HLA

Sterility

A mikoplazma-szennyeződést mind a PCR-alapú vizsgálatokkal, mind a lumineszcencia-alapú mikoplazma-kimutatói módszerekkel kizárják.

A bakteriális, gombás vagy élesztőgombás szennyeződés elkerülése érdekében a sejt kultúrákat napi vizuális ellenőrzésnek vetik alá.