

Cellule RBL-2H3 | 305194**Informazioni generali****Description**

La linea cellulare RBL-2H3 è diventata uno strumento prezioso per lo studio della fisiologia dei mastociti. Le cellule RBL-2H3 esprimono la proteasi II dei mastociti di ratto (RMCP-II) e il recettore tirosin-chinasi c-kit, che le rende un potenziale modello di mastociti. Tuttavia, sono stati riportati dati contrastanti e talvolta fuorvianti sulle cellule RBL-2H3.

Le cellule RBL-2H3 sono state ampiamente utilizzate per studiare vari aspetti della funzione dei mastociti, tra cui la degranolazione, gli stabilizzatori dei mastociti e l'interazione dei recettori FcεRI con il citoscheletro. Esprimono recettori IgE ad alta affinità e possono essere attivati per secernere istamina e altri mediatori. La coltivazione delle cellule RBL-2H3 è relativamente semplice e i tempi di coltura più lunghi consentono di ottenere una maggiore densità cellulare.

La degranolazione è una caratteristica fondamentale delle cellule RBL-2H3, simile ai mastociti e ai basofili. Quando gli allergeni reticolano i loro recettori FcεRI legati alle IgE, le cellule RBL-2H3 rilasciano mediatori preformati e di nuova sintesi, contribuendo alle risposte immunitarie allergiche. La degranolazione delle cellule RBL-2H3 ha fornito indicazioni anche sulla degranolazione dei basofili. Queste cellule possono anche subire una degranolazione in risposta a stimoli non immunologici e vi sono differenze tra MMC, RBL-2H3 e CTMC. Il ruolo del calcio nella degranolazione delle cellule RBL-2H3 è significativo. Lo ionoforo di calcio A23187, che aumenta i livelli di calcio intracellulare, induce la degranolazione nelle cellule RBL-2H3, analogamente ai mastociti e ai basofili. Alcuni studi hanno descritto le cellule RBL-2H3 come una linea cellulare che rilascia serotonina.

Organism

Ratto

Tissue

Sangue periferico

Disease

Leucemia del ratto

Synonyms

RBL2H3, RBL 2H3, RBL.2H3

Caratteristiche**Breed/Subspecies**

Wistar

Morphology

Fibroblasti

Growth properties

Aderente

Dati normativi**Citation**

RBL-2H3 (numero di catalogo Cytion 305194)

Cellule RBL-2H3 | 305194

Biosafety level	1
NCBI_TaxID	10116
CellosaurusAccession	CVCL_0591

Dati biomolecolari**Manipolazione**

Culture Medium	EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamina, w: 2,2 g/L NaHCO ₃ , w: EBSS (articolo Cytion numero 820100a)
-----------------------	---

Supplements	Integrare il terreno di coltura con il 10% di FBS e l'1% di NEAA
--------------------	--

Dissociation Reagent	Accutase
-----------------------------	----------

Subculturing	Rimuovere il vecchio terreno dalle cellule aderenti e lavarle con PBS privo di calcio e magnesio. Per le fiasche T25, utilizzare 3-5 ml di PBS e per le fiasche T75, 5-10 ml. Quindi, coprire completamente le cellule con Accutase, utilizzando 1-2 ml per le fiasche T25 e 2,5 ml per le fiasche T75. Lasciare incubare le cellule a temperatura ambiente per 8-10 minuti per staccarle. Dopo l'incubazione, mescolare delicatamente le cellule con 10 ml di terreno per risospenderle, quindi centrifugare a 300xg per 3 minuti. Scartare il surnatante, risospendere le cellule in terreno fresco e trasferirle in nuove fiasche contenenti terreno fresco.
---------------------	---

Split ratio	da 1:2 a 1:4
--------------------	--------------

Fluid renewal	da 2 a 3 volte alla settimana
----------------------	-------------------------------

Freeze medium	Come terreno di crioconservazione, utilizziamo un terreno di crescita completo (incluso FBS) + 10% DMSO per un'adeguata vitalità post-scongelo, o CM-1 (numero di catalogo Cytion 800100), che include osmoprotettori e stabilizzatori metabolici ottimizzati per migliorare il recupero e ridurre lo stress crio-indotto.
----------------------	--

Cellule RBL-2H3 | 305194

Thawing and Culturing Cells

1. Verificare che la fiala rimanga profondamente congelata al momento della consegna, poiché le cellule vengono spedite con ghiaccio secco per mantenere le temperature ottimali durante il trasporto.
2. Al ricevimento, conservare immediatamente la criovial a temperature inferiori a -150°C per garantire la conservazione dell'integrità cellulare, oppure procedere al punto 3 se è necessaria una coltura immediata.
3. Per la coltura immediata, scongelare rapidamente la fiala immergendola in un bagno d'acqua a 37°C con acqua pulita e un agente antimicrobico, agitando delicatamente per 40-60 secondi finché non rimane un piccolo grumo di ghiaccio.
4. Eseguire tutte le fasi successive in condizioni di sterilità in una cappa a flusso, disinfettando la criovial con etanolo al 70% prima dell'apertura.
5. Aprire con cautela la fiala disinfettata e trasferire la sospensione cellulare in una provetta da centrifuga da 15 ml contenente 8 ml di terreno di coltura a temperatura ambiente, mescolando delicatamente.
6. Centrifugare la miscela a 300 x g per 3 minuti per separare le cellule e scartare con cura il surnatante contenente il terreno di coltura residuo.
7. Risospendere delicatamente il pellet cellulare in 10 ml di terreno di coltura fresco. Per le cellule aderenti, dividere la sospensione tra due fiasche di coltura T25; per le colture in sospensione, trasferire tutto il terreno in una fiasca T25 per promuovere l'interazione e la crescita delle cellule.
8. Attenersi ai protocolli di subcoltura stabiliti per la crescita e il mantenimento continui della linea cellulare, garantendo risultati sperimentali affidabili.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO_2 , atmosfera umidificata.

Flask Coating

Nessuno

Freezing Procedure

Le linee cellulari crioconservate vengono spedite su ghiaccio secco in confezioni isolate e convalidate, con una quantità di refrigerante sufficiente a mantenere circa -78 °C durante il trasporto. Al ricevimento, ispezionare immediatamente il contenitore e trasferire immediatamente le fiale in un luogo di conservazione appropriato.

Shipping Conditions

Le linee cellulari crioconservate vengono spedite su ghiaccio secco in confezioni isolate e convalidate, con una quantità di refrigerante sufficiente a mantenere circa -78 °C durante il trasporto. Al ricevimento, ispezionare immediatamente il contenitore e trasferire immediatamente le fiale in un luogo di conservazione appropriato.

Cellule RBL-2H3 | 305194

Storage Conditions

Per la conservazione a lungo termine, porre le fiale in azoto liquido in fase vapore a una temperatura compresa tra -150 e -196 °C circa. La conservazione a -80 °C è accettabile solo come breve fase intermedia prima del trasferimento in azoto liquido.

Controllo di qualità / Profilo genetico / HLA

Sterility

La contaminazione da micoplasma viene esclusa utilizzando sia saggi basati sulla PCR sia metodi di rilevamento del micoplasma basati sulla luminescenza.

Per garantire l'assenza di contaminazione batterica, fungina o da lieviti, le colture cellulari sono sottoposte a ispezioni visive quotidiane.