

RBL-2H3 ląstelės | 305194

Bendra informacija

Description

RBL-2H3 ląstelių linija tapo vertingu įrankiu tiriant putliųjų ląstelių fiziologiją. RBL-2H3 ląstelės ekspresuoja žiurkių putliųjų ląstelių proteazę II (RMCP-II) ir c-kit receptorių tirozinkinazę, todėl jos gali būti putliųjų ląstelių modelis. Tačiau apie RBL-2H3 ląsteles buvo pateikta prieštaringų ir kartais klaidinančių duomenų.

RBL-2H3 ląstelės plačiai naudojamos įvairiems putliųjų ląstelių funkcijos aspektams, įskaitant degranuliaciją, putliųjų ląstelių stabilizatorius ir FcεRI receptorių sąveiką su citoskeletu, tirti. Jos ekspresuoja didelio afiniteto IgE receptorių ir gali būti aktyvuotos išskirti histaminą ir kitus mediatorius. Auginti RBL-2H3 ląsteles yra palyginti lengva, o ilgesnis auginimo laikas lemia didesnį ląstelių tankį.

RBL-2H3 ląstelėms, panašiai kaip ir putliosios ląstelėms bei bazofilams, būdinga degranuliacija. Kai alergenai susieja jų IgE surištus FcεRI receptorių, RBL-2H3 ląstelės išskiria iš anksto paruoštus ir naujai susintetintus mediatorius, kurie prisideda prie imuninių alerginių reakcijų. RBL-2H3 ląstelių degranuliacija leido suprasti ir bazofilų degranuliaciją. Šios ląstelės taip pat gali degranuliuoti reaguodamos į neimunologinius dirgiklius, o MMC, RBL-2H3 ir CTMC skiriasi.

Kalcio vaidmuo RBL-2H3 ląstelių degranuliacijai yra reikšmingas. Kalcio jonoforas A23187, didinantis viduląstelinį kalcio kiekį, sukelia RBL-2H3 ląstelių degranuliaciją, panašiai kaip putliųjų ląstelių ir bazofilų. Kai kuriuose tyrimuose RBL-2H3 ląstelės apibūdinamos kaip serotoninę atpalaiduojanti ląstelių linija.

Organism

Žiurkės

Tissue

Periferinis kraujas

Disease

Žiurkių leukemija

Synonyms

RBL2H3, RBL 2H3, RBL.2H3

Charakteristikos

Breed/Subspecies

Wistar

Morphology

Fibroblastai

Growth properties

Prigludęs

Reguliavimo duomenys

Citation

RBL-2H3 (Cytion katalogo numeris 305194)

Biosafety level

1

RBL-2H3 ląstelės | 305194

NCBI_TaxID 10116

CellosaurusAccession CVCL_0591

Biomolekuliniai duomenys

Tvarkymas

Culture Medium EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutaminas, w: 2,2 g/L NaHCO₃, w: EBSS (Cytion gaminio numeris 820100a)**Supplements** Papildykite terpę 10 % FBS ir 1 % NEAA**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Pašalinkite seną terpę nuo prilipusių ląstelių ir nuplaukite jas PBS, kuriame nėra kalcio ir magnio. T25 kolboms naudokite 3-5 ml PBS, o T75 kolboms - 5-10 ml. Tuomet visiškai užpilkite ląsteles "Accutase", naudodami 1-2 ml T25 kolboms ir 2,5 ml T75 kolboms. Leiskite ląstelėms inkubuotis kambario temperatūroje 8-10 minučių, kad jos atsiskirtų. Po inkubacijos atsargiai sumaišykite ląsteles su 10 ml terpės, kad jos vėl suspenduotų, tada 3 minutes centrifuguokite 300xg greičiu. Išmeskite supernatantą, vėl sutirpinkite ląsteles šviežioje terpėje ir perkeltite jas į naujas kolbas, kuriose jau yra šviežia terpė.**Split ratio** nuo 1:2 iki 1:4**Fluid renewal** 2-3 kartus per savaitę**Freeze medium** Kaip kriokonservavimo terpę naudojame visišką augimo terpę (įskaitant FBS) + 10 % DMSO, kad būtų užtikrintas tinkamas gyvybingumas po atšildymo, arba CM-1 (Cytion katalogo numeris 800100), kurioje yra optimizuotų osmoprotektorių ir medžiagų apykaitos stabilizatorių, kad būtų pagerintas atsigavimas ir sumažintas kriokonservavimo sukeltas stresas.

RBL-2H3 ląstelės | 305194

Thawing and Culturing Cells

1. Patikrinkite, ar pristatant buteliuką jis išlieka gerai užšaldytas, nes ląstelės gabenamos ant sauso ledo, kad gabenimo metu būtų palaikoma optimali temperatūra.
2. Gavę iš karto laikykite kriovialą žemesnėje nei -150°C temperatūroje, kad užtikrintumėte ląstelių vientisumo išsaugojimą, arba pereikite prie 3 veiksmo, jei reikia nedelsiant kultivuoti.
3. Jei norite nedelsiant pradėti kultivuoti, greitai atšildykite buteliuką panardindami jį į 37°C temperatūros vandens vonelę su švariu vandeniu ir antimikrobine priemone, švelniai maišydami 40-60 sekundžių, kol liks nedidelis ledo gabalėlis.
4. Visus tolesnius veiksmus atlikite steriliomis sąlygomis srauto gaubte, prieš atidarydami kriovialą dezinfekuokite jį 70 % etanoliu.
5. Atsargiai atidarykite dezinfekuotą buteliuką ir perpilkite ląstelių suspensiją į 15 ml centrifugos mėgintuvėlį, kuriame yra 8 ml kambario temperatūros mitybinės terpės, atsargiai išmaišykite.
6. Mišinį centrifuguokite 300 x g greičiu 3 minutes, kad atsiskirtų ląstelės, ir atsargiai išmeskite supernatantą su šaldymo terpės likučiais.
7. Švelniai resuspenduokite ląstelių granules 10 ml šviežios mitybinės terpės. Jei ląstelės yra prigludusios, suspensiją padalykite į dvi T25 kolbas; jei tai suspensinės kultūros, visą terpę perkelti į vieną T25 kolbą, kad paskatintumėte veiksmingą ląstelių sąveiką ir augimą.
8. Laikykitės nustatytų subkultūrų protokolų, kad ląstelių linija nuolat augtų ir būtų palaikoma, taip užtikrinant patikimus eksperimentų rezultatus.

Incubation Atmosphere

37°C , 5 % CO_2 , drėkintoje atmosferoje.

Flask Coating

Nėra

Freezing Procedure

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug -78°C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelti mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

Shipping Conditions

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug -78°C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelti mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

RBL-2H3 ląstelės | 305194

**Storage
Conditions**

Norėdami ilgai saugoti, įdėkite buteliukus į garų fazės skystą azotą maždaug -150-196 °C temperatūroje. Laikymas -80 °C temperatūroje yra priimtinas tik kaip trumpas tarpinis etapas prieš perkeliant į skystą azotą.

Kokybės kontrolė / Genetinis profilis / HLA

Sterility

Mikoplazmos užterštumas atmetamas taikant PGR pagrįstus tyrimus ir liuminescencinius mikoplazmos aptikimo metodus.

Siekiant užtikrinti, kad nebūtų užteršimo bakterijomis, grybeliais ar mielėmis, ląstelių kultūros kasdien vizualiai tikrinamos.