

RBL-2H3 šūnas | 305194

Vispārīga informācija

Description

RBL-2H3 šūnu līnija ir kļuvusi par vērtīgu rīku tuklo šūnu fizioloģijas pētījumiem. RBL-2H3 šūnas ekspresē žurku tuklo šūnu proteāzi II (RMCP-II) un c-kit receptoru tirozīnkināzi, padarot tās par potenciālu tuklo šūnu modeli. Tomēr par RBL-2H3 šūnām ir saņemti pretrunīgi un dažkārt maldinoši dati.

RBL-2H3 šūnas ir plaši izmantotas, lai pētītu dažādus tuklo šūnu funkcijas aspektus, tostarp degranulāciju, tuklo šūnu stabilizatorus un FcεRI receptoru mijiedarbību ar citoskeletu. Tās ekspresē augstas afinitātes IgE receptorus, un tās var tikt aktivētas, lai izdalītu histamīnu un citus mediatorus. RBL-2H3 šūnu kultivēšana ir salīdzinoši vienkārša, un ilgāks kultivēšanas laiks nodrošina lielāku šūnu blīvumu.

RBL-2H3 šūnām, līdzīgi kā tuklajām šūnām un bazofiliem, ir raksturīga degranulācija. Kad alergēni sašuj to IgE saistītās FcεRI receptorus, RBL-2H3 šūnas atbrīvo iepriekš sagatavotus un no jauna sintezētus mediatorus, veicinot imūnās alergiskās reakcijas. RBL-2H3 šūnu degranulācija ir devusi ieskatu arī bazofilu degranulācijā. Šīs šūnas var degranulēt arī, reaģējot uz neimunoloģiskiem stimuliem, un ir atšķirības starp MMC, RBL-2H3 un CTMC.

Kalcija loma RBL-2H3 šūnu degranulācijā ir nozīmīga. Kalcija jonofors A23187, kas paaugstina intracelulāro kalcija līmeni, inducē RBL-2H3 šūnu degranulāciju, līdzīgi kā tuklajās šūnās un bazofilos. Dažos pētījumos RBL-2H3 šūnas ir aprakstītas kā serotonīnu atbrīvojoša šūnu līnija.

Organism

Žurkas

Tissue

Perifērās asinis

Disease

Žurku leukēmija

Synonyms

RBL2H3, RBL 2H3, RBL.2H3

Raksturojums

Breed/Subspecies

Wistar

Morphology

Fibroblasti

Growth properties

Adherent

Normatīvie dati

Citation

RBL-2H3 (Cytion kataloga numurs 305194)

Biosafety level

1

RBL-2H3 šūnas | 305194

NCBI_TaxID 10116

CellosaurusAccession CVCL_0591

Biomolekulārie dati

Darbs ar

Culture Medium EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-glutamīns, w: 2,2 g/L NaHCO₃, w: EBSS (Cytion izstrādājuma numurs 820100a)**Supplements** Papildināt barotni ar 10% FBS un 1% NEAA**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Noņemt veco barotni no pielipušajām šūnām un mazgāt tās ar PBS, kurā nav kalcija un magnija. T25 kolbām izmantojiet 3-5 ml PBS, bet T75 kolbām - 5-10 ml. Pēc tam pilnībā pārklājat šūnas ar Accutase, izmantojot 1-2 ml T25 kolbām un 2,5 ml T75 kolbām. Ļaujiet šūnām inkubēties istabas temperatūrā 8-10 minūtes, lai tās atdalītos. Pēc inkubācijas uzmanīgi samaisiet šūnas ar 10 ml barotnes, lai tās atkārtoti suspendētu, pēc tam centrifugējiet 3 minūtes ar 300xg. Izmetiet supernatantu, atkārtoti suspendējiet šūnas svaigā barotnē un pārvietojiet tās jaunās kolbās, kurās jau ir svaiga barotne.**Split ratio** no 1:2 līdz 1:4**Fluid renewal** 2 līdz 3 reizes nedēļā**Freeze medium** Kā kriokonservēšanas barotni mēs izmantojam pilnvērtīgu augšanas barotni (ieskaitot FBS) + 10 % DMSO, lai nodrošinātu pietiekamu dzīvotspēju pēc atkausēšanas, vai CM-1 (Cytion kataloga numurs 800100), kas ietver optimizētus osmoprotektorus un metaboliskos stabilizatorus, lai uzlabotu atveseļošanas un samazinātu krioinducēto stresu.

RBL-2H3 šūnas | 305194

Thawing and Culturing Cells

1. Pārliecinieties, ka pēc piegādes flakons paliek dziļi sasaldēts, jo šūnas tiek sūtītas uz sausā ledus, lai pārvadāšanas laikā saglabātu optimālu temperatūru.
2. Pēc saņemšanas vai nu nekavējoties uzglabāt kriovialu temperatūrā, kas zemāka par -150 °C, lai nodrošinātu šūnu integritātes saglabāšanu, vai arī turpināt 3. posmu, ja nepieciešama tūlītēja kultivēšana.
3. Tūlītējas kultivēšanas gadījumā ātri atkausējiet flakonu, iegremdējot to 37°C ūdens vannā ar tīru ūdeni un antibakteriālu līdzekli, viegli maisot 40-60 sekundes, līdz paliek neliels ledus gabaliņš.
4. Visas turpmākās darbības veiciet sterilos apstākļos plūsmas nosūcējā, pirms atvēršanas dezinficējot kriovialu ar 70% etanolu.
5. Uzmanīgi atveriet dezinficēto flakonu un pārnesiet šūnu suspensiju 15 ml centrifūgas mēģenē, kurā ir 8 ml istabas temperatūras barotnes, uzmanīgi samaisot.
6. Centrifugējiet maisījumu ar 300 x g 3 minūtes, lai atdalītu šūnas, un uzmanīgi izmetiet virskārtu, kas satur saldēšanas barotnes atlikumus.
7. Viegli resuspendēt šūnu granulas 10 ml svaigas barotnes. Adhēzijas šūnu gadījumā suspensiju sadalīt divās T25 kolbās; suspensijas kultūrām visu barotni pārnest vienā T25 kolbā, lai veicinātu efektīvu šūnu mijiedarbību un augšanu.
8. Ievērojiet noteiktos subkultūru protokolus, lai nodrošinātu nepārtrauktu šūnu līnijas augšanu un uzturēšanu, tādējādi nodrošinot uzticamus eksperimentu rezultātus.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO_2 , mitrināta atmosfēra.

Flask Coating

Neviens

Freezing Procedure

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidrums daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

RBL-2H3 šūnas | 305194

**Shipping
Conditions**

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidrums daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

**Storage
Conditions**

Ilgstošai uzglabāšanai flakonus ievietojiet šķidrā slāpekļī ar tvaika fāzi aptuveni -150 līdz -196 °C temperatūrā. Uzglabāšana -80 °C temperatūrā ir pieļaujama tikai kā īss starposms pirms pārvietošanas uz šķidro slāpekli.

Kvalitātes kontrole / Ģenētiskais profils / HLA

Sterility

Mikoplazmas piesārņojums tiek izslēgts, izmantojot gan uz PCR balstītus testus, gan uz luminiscenci balstītas mikoplazmas noteikšanas metodes.

Lai pārliecinātos, ka nav baktēriju, sēnīšu vai rauga piesārņojuma, šūnu kultūras katru dienu vizuāli pārbauda.