

RBL-2H3-cellen | 305194

Algemene informatie

Description

De RBL-2H3 cellijn is een waardevol instrument geworden voor het bestuderen van mastcelfysiologie. RBL-2H3 cellen brengen rat mastcelprotease II (RMCP-II) en het c-kit receptor tyrosinekinase tot expressie, waardoor ze een potentieel model voor mestcellen vormen. Er zijn echter tegenstrijdige en soms misleidende gegevens over RBL-2H3 cellen gerapporteerd.

RBL-2H3 cellen zijn op grote schaal gebruikt om verschillende aspecten van de werking van mestcellen te onderzoeken, waaronder degranulatie, mestcelstabilisatoren en de interactie van FcεRI receptoren met het cytoskelet. Ze brengen IgE-receptoren met hoge affiniteit tot expressie en kunnen geactiveerd worden om histamine en andere mediators af te scheiden. Het kweken van RBL-2H3 cellen is relatief eenvoudig en een langere kweektijd resulteert in een hogere celdichtheid.

Degranulatie is een belangrijk kenmerk van RBL-2H3 cellen, vergelijkbaar met mestcellen en basofielen. Wanneer allergenen hun IgE-gebonden FcεRI-receptoren kruisen, geven RBL-2H3 cellen vooraf gevormde en nieuw gesynthetiseerde mediators vrij, wat bijdraagt aan de immuunallergische respons. De degranulatie van RBL-2H3 cellen heeft ook inzicht gegeven in de degranulatie van basofielen. Deze cellen kunnen ook degranuleren als reactie op niet-immunologische prikkels en er zijn verschillen tussen MMC, RBL-2H3 en CTMC. De rol van calcium in degranulatie van RBL-2H3 cellen is significant. De calciumionofoor A23187, die de intracellulaire calciumniveaus verhoogt, induceert degranulatie in RBL-2H3 cellen, vergelijkbaar met mestcellen en basofielen. Sommige studies hebben RBL-2H3 cellen beschreven als een serotonine-afgeevende cellijn.

Organism

Rat

Tissue

Perifeer bloed

Disease

Leukemie bij ratten

Synonyms

RBL2H3, RBL 2H3, RBL.2H3

Kenmerken

Breed/Subspecies

Wistar

Morphology

Fibroblast

Growth properties

Aanhangend

Regelgevende gegevens

Citation

RBL-2H3 (Cytion catalogusnummer 305194)

RBL-2H3-cellen | 305194

Biosafety level	1
NCBI_TaxID	10116
CellosaurusAccession	CVCL_0591

Biomoleculaire gegevens**Omgaan met**

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

Supplements	Vul het medium aan met 10% FBS en 1% NEAA
--------------------	---

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

Subculturing	Verwijder het oude medium van de adherente cellen en was ze met PBS zonder calcium en magnesium. Gebruik voor T25-flesjes 3-5 ml PBS en voor T75-flesjes 5-10 ml. Bedek de cellen vervolgens volledig met Accutase, met 1-2 ml voor T25-flesjes en 2,5 ml voor T75-flesjes. Laat de cellen gedurende 8-10 minuten bij kamertemperatuur incuberen om ze los te maken. Na incubatie de cellen voorzichtig mengen met 10 ml medium om ze te resuspenderen en vervolgens centrifugereren bij 300xg gedurende 3 minuten. Gooi het supernatant weg, resuspendeer de cellen in vers medium en breng ze over in nieuwe kolven die al vers medium bevatten.
---------------------	--

Split ratio	1:2 tot 1:4
--------------------	-------------

Fluid renewal	2 tot 3 keer per week
----------------------	-----------------------

Freeze medium	Als cryoconserveringsmedium gebruiken we volledig groeimedum (inclusief FBS) + 10% DMSO voor voldoende levensvatbaarheid na het ontdooien, of CM-1 (Cytion catalogusnummer 800100), dat geoptimaliseerde osmoprotectanten en metabolische stabilisatoren bevat om het herstel te verbeteren en door cryo geïnduceerde stress te verminderen.
----------------------	--

RBL-2H3-cellen | 305194

Thawing and Culturing Cells

1. Controleer of de flacon bij levering diepgevroren blijft, aangezien de cellen op droog ijs worden verzonden om optimale temperaturen tijdens het transport te behouden.
2. Bewaar het cryoflesje na ontvangst onmiddellijk bij temperaturen lager dan $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ om de integriteit van de cellen te behouden, of ga verder met stap 3 als onmiddellijke kweek vereist is.
3. Voor onmiddellijke kweek: ontdooi de flacon snel door deze onder te dompelen in een waterbad van $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ met schoon water en een antimicrobieel middel, waarbij u 40-60 seconden zachtjes schudt totdat er een klein ijsklontje overblijft.
4. Voer alle volgende stappen uit onder steriele omstandigheden in een stromingskap en desinfecteer de cryoflacon met 70% ethanol voordat deze wordt geopend.
5. Open voorzichtig de gedesinfecteerde flacon en breng de celsuspensie over in een centrifugebuis van 15 ml met 8 ml kweekmedium op kamertemperatuur en meng voorzichtig.
6. Centrifugeer het mengsel gedurende 3 minuten bij $300 \times g$ om de cellen te scheiden en gooi het supernatant met resterend vriesmedium voorzichtig weg.
7. Resuspendeer de celpellet voorzichtig in 10 ml vers kweekmedium. Verdeel voor adherente cellen de suspensie over twee T25-kweekkolven; breng voor suspensiekweken al het medium over in één T25-kweekkolf om effectieve celinteractie en -groei te bevorderen.
8. Houd u aan de vastgestelde subcultuurprotocollen voor continue groei en onderhoud van de cellijn, om betrouwbare experimentele resultaten te garanderen.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , bevochtigde atmosfeer.

Flask Coating

Geen

Freezing Procedure

Gecryopreserveerde cellijnen worden verzonden op droog ijs in gevalideerde, geïsoleerde verpakkingen met voldoende koelmiddel om gedurende het transport ongeveer $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ te handhaven. Inspecteer de verpakking onmiddellijk na ontvangst en breng de flacons onverwijld over naar de juiste opslagplaats.

Shipping Conditions

Gecryopreserveerde cellijnen worden verzonden op droog ijs in gevalideerde, geïsoleerde verpakkingen met voldoende koelmiddel om gedurende het transport ongeveer $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ te handhaven. Inspecteer de verpakking onmiddellijk na ontvangst en breng de flacons onverwijld over naar de juiste opslagplaats.

RBL-2H3-cellen | 305194

**Storage
Conditions**

Voor langdurige bewaring plaatst u flesjes in vloeibare stikstof in dampfase bij ongeveer -150 tot -196 °C. Opslag bij -80 °C is alleen aanvaardbaar als korte tussenstap vóór overbrenging naar vloeibare stikstof.

Kwaliteitscontrole / Genetisch profiel / HLA

Sterility

Mycoplasma-verontreiniging wordt uitgesloten met zowel PCR-gebaseerde testen als op luminescentie gebaseerde mycoplasma-detectiemethoden.

Om er zeker van te zijn dat er geen besmetting is met bacteriën, schimmels of gisten, worden de celculturen dagelijks onderworpen aan visuele inspecties.