

RBL-2H3-celler | 305194**Generell informasjon****Description**

RBL-2H3-cellelinjen har blitt et verdifullt verktøy for å studere mastcellenes fysiologi. RBL-2H3-celler uttrykker rotte-mastcelleprotease II (RMCP-II) og c-kit-reseptortyrosinkinase, noe som gjør dem til en potensiell modell for mastceller. Det er imidlertid rapportert motstridende og noen ganger misvisende data om RBL-2H3-celler.

RBL-2H3-celler har blitt mye brukt til å undersøke ulike aspekter ved mastcellenes funksjon, blant annet degranulering, mastcellestabilisatorer og FcεRI-reseptorenes interaksjon med cytoskjelettet. De uttrykker IgE-reseptorer med høy affinitet og kan aktiveres til å skille ut histamin og andre mediatorer. Det er relativt enkelt å dyrke RBL-2H3-celler, og lengre dyrkningstid gir høyere celletetthet.

Degranulering er en viktig egenskap ved RBL-2H3-celler, i likhet med mastceller og basofiler. Når allergener krysskobler deres IgE-bundne FcεRI-reseptorer, frigjør RBL-2H3-celler preformerte og nysyntetiserte mediatorer, noe som bidrar til allergiske immunreaksjoner. Degranuleringen av RBL-2H3-celler har også gitt innsikt i basofil degranulering. Disse cellene kan også degranulere som respons på ikke-immunologiske stimuli, og det er forskjeller mellom MMC, RBL-2H3 og CTMC.

Kalsium spiller en viktig rolle i degranuleringen av RBL-2H3-celler. Kalsiumionoforen A23187, som øker det intracellulære kalsiumnivået, induserer degranulering i RBL-2H3-celler, på samme måte som mastceller og basofiler. Noen studier har beskrevet RBL-2H3-celler som en serotoninfrigjørende cellelinje.

Organism

Rotte

Tissue

Perifert blod

Disease

Leukemi hos rotter

Synonyms

RBL2H3, RBL 2H3, RBL.2H3

Kjennetegn**Breed/Subspecies**

Wistar

Morphology

Fibroblast

Growth properties

Vedhengende

Regulatoriske data**Citation**

RBL-2H3 (Cytion katalognummer 305194)

Biosafety level

1

RBL-2H3-celler | 305194**NCBI_TaxID** 10116**CellosaurusAccession** CVCL_0591**Biomolekylære data****Håndtering****Culture Medium** EMEM (MEM Eagle), m: 2 mM L-Glutamin, m: 2,2 g/L NaHCO₃, m: EBSS (Cytion artikkelnummer 820100a)**Supplements** Suppler mediet med 10 % FBS og 1 % NEAA**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Fjern det gamle mediet fra de adherente cellene, og vask dem med PBS uten kalsium og magnesium. Bruk 3-5 ml PBS for T25-kolber og 5-10 ml for T75-kolber. Dekk deretter cellene helt med Accutase, med 1-2 ml for T25-kolber og 2,5 ml for T75-kolber. La cellene inkubere i romtemperatur i 8-10 minutter for å løsne dem. Etter inkubasjon blandes cellene forsiktig med 10 ml medium for å resuspendere dem, og sentrifuger deretter ved 300xg i 3 minutter. Kast supernatanten, resuspend cellene i nytt medium, og overfør dem til nye kolber som allerede inneholder nytt medium.**Split ratio** 1:2 til 1:4**Fluid renewal** 2 til 3 ganger per uke**Freeze medium** Som kryopreserveringsmedium bruker vi komplett vekstmedium (inkludert FBS) + 10 % DMSO for tilstrekkelig levedyktighet etter opptining, eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som inneholder optimaliserte osmobeskyttende midler og metabolske stabilisatorer for å øke utvinningen og redusere kryoinduisert stress.

RBL-2H3-celler | 305194

Thawing and Culturing Cells

1. Kontroller at hetteglasset er dypfrost ved levering, ettersom cellene sendes på tørris for å opprettholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved mottak skal hetteglasset enten oppbevares umiddelbart ved temperaturer under $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ for å sikre at cellenes integritet bevares, eller gå videre til trinn 3 hvis umiddelbar dyrking er nødvendig.
3. Ved umiddelbar dyrking tiner du hetteglasset raskt ved å senke det ned i et $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ varmt vannbad med rent vann og et antimikrobielt middel, og røre forsiktig i 40-60 sekunder til det blir en liten isklump igjen.
4. Utfør alle påfølgende trinn under sterile forhold i en strømningshette, og desinfiser kryoflasken med 70 % etanol før du åpner den.
5. Åpne det desinfiserte hetteglasset forsiktig, og overfør cellesuspensjonen til et 15 ml sentrifugerør som inneholder 8 ml romtemperert dyrkingsmedium, og bland forsiktig.
6. Sentrifuger blandingen ved $300 \times g$ i 3 minutter for å separere cellene, og kast supernatanten som inneholder rester av frysemedium, forsiktig.
7. Resuspender cellepelleten forsiktig i 10 ml nytt dyrkingsmedium. For adherente celler, del suspensjonen mellom to T25-kulturkolber; for suspensjonskulturer, overfør alt mediet til én T25-kolbe for å fremme effektiv celleinteraksjon og vekst.
8. Følg etablerte subkulturprotokoller for fortsatt vekst og vedlikehold av cellelinjen, noe som sikrer pålitelige eksperimentelle resultater.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5 % CO_2 , befuktet atmosfære.

Flask Coating

Ingen

Freezing Procedure

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca. $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

Shipping Conditions

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca. $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

RBL-2H3-celler | 305194

**Storage
Conditions**

For langtidsoppbevaring plasseres hetteglassene i flytende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Lagring ved -80 °C er kun akseptabelt som et kort mellomtrinn før overføring til flytende nitrogen.

Kvalitetskontroll / Genetisk profil / HLA

Sterility

Mykoplasma-kontaminering utelukkes ved hjelp av både PCR-baserte analyser og luminescensbaserte metoder for påvisning av mykoplasma.

For å sikre at det ikke finnes bakterie-, sopp- eller gjærkontaminering, blir cellekulturene inspisert visuelt hver dag.