

**Komórki RBL-2H3 | 305194****Informacje ogólne****Description**

Linia komórkowa RBL-2H3 stała się cennym narzędziem do badania fizjologii komórek tucznych. Komórki RBL-2H3 wykazują ekspresję proteazy szczurzych komórek tucznych II (RMCP-II) i kinazy tyrozynowej receptora c-kit, co czyni je potencjalnym modelem komórek tucznych. Zgłoszono jednak sprzeczne i czasami mylące dane dotyczące komórek RBL-2H3.

Komórki RBL-2H3 były szeroko stosowane do badania różnych aspektów funkcji komórek tucznych, w tym degranulacji, stabilizatorów komórek tucznych i interakcji receptorów FcεRI z cytoszkieletem. Wyrażają one receptory IgE o wysokim powinowactwie i mogą być aktywowane do wydzielania histaminy i innych mediatorów. Hodowla komórek RBL-2H3 jest stosunkowo łatwa, a dłuższy czas hodowli skutkuje większą gęstością komórek.

Degranulacja jest kluczową cechą komórek RBL-2H3, podobną do komórek tucznych i bazofilów. Gdy alergenysięciują ich receptory FcεRI związane z IgE, komórki RBL-2H3 uwalniają wstępnie uformowane i nowo zsyntetyzowane mediatory, przyczyniając się do immunologicznych odpowiedzi alergicznych. Degranulacja komórek RBL-2H3 dostarczyła również wglądu w degranulację bazofilów. Komórki te mogą również ulegać degranulacji w odpowiedzi na bodźce nieimmunologiczne i istnieją różnice między MMC, RBL-2H3 i CTMC. Rola wapnia w degranulacji komórek RBL-2H3 jest znacząca. Jonofor wapnia A23187, który zwiększa wewnątrzkomórkowy poziom wapnia, indukuje degranulację w komórkach RBL-2H3, podobnie jak w komórkach tucznych i bazofilach. Niektóre badania opisują komórki RBL-2H3 jako linię komórkową uwalniającą serotoninę.

**Organism**

Szczur

**Tissue**

Krew obwodowa

**Disease**

Białaczka szczurów

**Synonyms**

RBL2H3, RBL 2H3, RBL.2H3

**Charakterystyka****Breed/Subspecies**

Wistar

**Morphology**

Fibroblast

**Growth properties**

Adherent

**Dane regulacyjne****Citation**

RBL-2H3 (numer katalogowy Cytion 305194)

**Komórki RBL-2H3 | 305194**

<b>Biosafety level</b>	1
<b>NCBI_TaxID</b>	10116
<b>CellosaurusAccession</b>	CVCL_0591

**Dane biomolekularne****Obsługa**

<b>Culture Medium</b>	EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-glutamina, w: 2,2 g/L NaHCO <sub>3</sub> , w: EBSS (numer artykułu Cytion 820100a)
-----------------------	--

<b>Supplements</b>	Uzupełnić podłoże 10% FBS i 1% NEAA
--------------------	-------------------------------------

<b>Dissociation Reagent</b>	Accutase
-----------------------------	----------

<b>Subculturing</b>	Usuń starą pożywkę z przylegających komórek i przemyj je PBS, który nie zawiera wapnia i magnezu. W przypadku kolb T25 należy użyć 3-5 ml PBS, a w przypadku kolb T75 5-10 ml. Następnie całkowicie pokryj komórki Accutase, używając 1-2 ml dla kolb T25 i 2,5 ml dla kolb T75. Pozwól komórkom inkubować w temperaturze pokojowej przez 8-10 minut, aby je oddzielić. Po inkubacji delikatnie wymieszaj komórki z 10 ml pożywki, aby ponownie je zawiesić, a następnie odwiruj przy 300xg przez 3 minuty. Odrzuć supernatant, ponownie zawiesić komórki w świeżej pożywce i przenieść je do nowych kolb zawierających już świeżą pożywkę.
---------------------	---

<b>Split ratio</b>	1:2 do 1:4
--------------------	------------

<b>Fluid renewal</b>	2 do 3 razy w tygodniu
----------------------	------------------------

<b>Freeze medium</b>	Jako pożywki do kriokonserwacji używamy kompletnej pożywki wzrostowej (w tym FBS) + 10% DMSO w celu zapewnienia odpowiedniej żywotności po rozmrożeniu lub CM-1 (numer katalogowy Cytion 800100), która zawiera zoptymalizowane osmoprotektanty i stabilizatory metaboliczne w celu zwiększenia regeneracji i zmniejszenia stresu wywołanego kriokonserwacją.
----------------------	---

## Komórki RBL-2H3 | 305194

### Thawing and Culturing Cells

1. Upewnij się, że fiolka pozostaje głęboko zamrożona w momencie dostawy, ponieważ komórki są wysyłane w suchym lodzie, aby utrzymać optymalną temperaturę podczas transportu.
2. Po otrzymaniu należy natychmiast przechowywać fiolkę w temperaturze poniżej  $-150^{\circ}\text{C}$ , aby zapewnić zachowanie integralności komórek, lub przejść do kroku 3, jeśli wymagana jest natychmiastowa hodowla.
3. W przypadku natychmiastowej hodowli należy szybko rozmrozić fiolkę, zanurzając ją w łaźni wodnej o temperaturze  $37^{\circ}\text{C}$  z czystą wodą i środkiem przeciwdrobnoustrojowym, delikatnie mieszając przez 40-60 sekund, aż pozostanie niewielka grudka lodu.
4. Wykonaj wszystkie kolejne kroki w sterylnych warunkach w kapturze przepływowej, dezynfekując fiolkę 70% etanolem przed otwarciem.
5. Ostrożnie otworzyć zdezynfekowaną fiolkę i przenieść zawiesinę komórek do 15 ml próbówki wirówkowej zawierającej 8 ml podłoża hodowlanego o temperaturze pokojowej, delikatnie mieszając.
6. Wirować mieszaninę z prędkością  $300 \times g$  przez 3 minuty w celu oddzielenia komórek i ostrożnie odrzucić supernatant zawierający pozostałości pożywki do zamrażania.
7. Delikatnie ponownie zawiesić osad komórek w 10 ml świeżego podłoża hodowlanego. W przypadku komórek przylegających, rozdzielić zawiesinę pomiędzy dwie kolby hodowlane T25; w przypadku hodowli zawieszonych, przenieść całą pożywkę do jednej kolby T25 w celu promowania skutecznej interakcji i wzrostu komórek.
8. Przestrzegaj ustalonych protokołów podhodowli w celu ciągłego wzrostu i utrzymania linii komórkowej, zapewniając wiarygodne wyniki eksperymentów.

### Incubation Atmosphere

$37^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , nawilżona atmosfera.

### Flask Coating

Brak

### Freezing Procedure

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około  $-78^{\circ}\text{C}$  przez czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

## Komórki RBL-2H3 | 305194

### Shipping Conditions

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około  $-78^{\circ}\text{C}$  przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiołki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

### Storage Conditions

W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiołki w ciekłym azocie w fazie lotnej w temperaturze od  $-150$  do  $-196^{\circ}\text{C}$ . Przechowywanie w temperaturze  $-80^{\circ}\text{C}$  jest dopuszczalne tylko jako krótki etap przejściowy przed przeniesieniem do ciekłego azotu.

## Kontrola jakości / Profil genetyczny / HLA

### Sterility

Zanieczyszczenie mykoplazmą jest wykluczane przy użyciu zarówno testów opartych na PCR, jak i metod wykrywania mykoplazmy opartych na luminescencji.

Aby upewnić się, że nie ma zanieczyszczenia bakteriami, grzybami lub drożdżami, hodowle komórkowe są poddawane codziennym kontrolom wizualnym.