

**Células RBL-2H3 | 305194****Informações gerais****Description**

A linha celular RBL-2H3 tornou-se um instrumento valioso para o estudo da fisiologia dos mastócitos. As células RBL-2H3 expressam a protease II dos mastócitos de rato (RMCP-II) e a tirosina quinase do recetor c-kit, o que as torna um modelo potencial para os mastócitos. No entanto, foram registados dados contraditórios e por vezes enganadores sobre as células RBL-2H3.

As células RBL-2H3 têm sido amplamente utilizadas para investigar vários aspectos da função dos mastócitos, incluindo a desgranulação, os estabilizadores de mastócitos e a interação dos receptores FcεRI com o citoesqueleto. Expressam receptores IgE de alta afinidade e podem ser activados para segregar histamina e outros mediadores. A cultura de células RBL-2H3 é relativamente fácil e tempos de cultura mais longos resultam numa maior densidade celular.

A desgranulação é uma característica essencial das células RBL-2H3, semelhante à dos mastócitos e basófilos. Quando os alérgenos se ligam aos seus receptores FcεRI ligados à IgE, as células RBL-2H3 libertam mediadores pré-formados e recém-sintetizados, contribuindo para as respostas alérgicas imunitárias. A desgranulação das células RBL-2H3 também forneceu informações sobre a desgranulação dos basófilos. Estas células também podem sofrer desgranulação em resposta a estímulos não imunológicos, e existem diferenças entre MMC, RBL-2H3 e CTMC.

O papel do cálcio na desgranulação das células RBL-2H3 é significativo. O ionóforo de cálcio A23187, que aumenta os níveis de cálcio intracelular, induz a desgranulação das células RBL-2H3, à semelhança dos mastócitos e dos basófilos. Alguns estudos descreveram as células RBL-2H3 como uma linha de células libertadoras de serotonina.

**Organism**

Rato

**Tissue**

Sangue periférico

**Disease**

Leucemia do rato

**Synonyms**

RBL2H3, RBL 2H3, RBL.2H3

**Caraterísticas****Breed/Subspecies**

Wistar

**Morphology**

Fibroblastos

**Growth properties**

Aderente

**Dados regulamentares**

**Células RBL-2H3 | 305194****Citation** RBL-2H3 (número de catálogo Cytion 305194)**Biosafety level** 1**NCBI\_TaxID** 10116**CellosaurusAccession** CVCL\_0591**Dados biomoleculares****Manuseamento****Culture Medium** EMEM (MEM Eagle), com: 2 mM L-Glutamina, com: 2,2 g/L NaHCO<sub>3</sub>, com: EBSS (número de artigo Cytion 820100a)**Supplements** Completar o meio com 10% de FBS e 1% de NEAA**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Retirar o meio antigo das células aderentes e lavá-las com PBS sem cálcio e magnésio. Nos frascos T25, utilizar 3-5 ml de PBS e, nos frascos T75, 5-10 ml. Em seguida, cobrir completamente as células com Accutase, utilizando 1-2 ml para os frascos T25 e 2,5 ml para os frascos T75. Deixar as células incubar à temperatura ambiente durante 8-10 minutos para as destacar. Após a incubação, misturar suavemente as células com 10 ml de meio para as ressuspender e, em seguida, centrifugar a 300xg durante 3 minutos. Deitar fora o sobrenadante, ressuspender as células em meio fresco e transferi-las para novos frascos que já contenham meio fresco.**Split ratio** 1:2 a 1:4**Fluid renewal** 2 a 3 vezes por semana**Freeze medium** Como meio de criopreservação, utilizamos um meio de crescimento completo (incluindo FBS) + 10% DMSO para uma viabilidade pós-descongelamento adequada, ou CM-1 (número de catálogo Cytion 800100), que inclui osmoprotectores otimizados e estabilizadores metabólicos para melhorar a recuperação e reduzir o stress induzido pela crio.

## Células RBL-2H3 | 305194

### Thawing and Culturing Cells

1. Confirme que o frasco permanece profundamente congelado aquando da entrega, uma vez que as células são enviadas em gelo seco para manter as temperaturas ideais durante o transporte.
2. Após a receção, armazenar o frasco criogénico imediatamente a temperaturas inferiores a  $-150^{\circ}\text{C}$  para garantir a preservação da integridade celular, ou avançar para o passo 3 se for necessária uma cultura imediata.
3. Para uma cultura imediata, descongelar rapidamente o frasco imergindo-o num banho de água a  $37^{\circ}\text{C}$  com água limpa e um agente antimicrobiano, agitando suavemente durante 40-60 segundos até ficar um pequeno aglomerado de gelo.
4. Efetuar todos os passos subsequentes em condições estéreis numa capela de fluxo, desinfectando o frasco criogénico com etanol a 70% antes de o abrir.
5. Abrir cuidadosamente o frasco desinfectado e transferir a suspensão de células para um tubo de centrifugação de 15 ml contendo 8 ml de meio de cultura à temperatura ambiente, misturando suavemente.
6. Centrifugar a mistura a  $300 \times g$  durante 3 minutos para separar as células e eliminar cuidadosamente o sobrenadante que contém o meio de congelação residual.
7. Ressuspender suavemente o pellet de células em 10 ml de meio de cultura fresco. No caso de células aderentes, dividir a suspensão entre dois frascos de cultura T25; no caso de culturas em suspensão, transferir todo o meio para um frasco T25 para promover uma interação e um crescimento eficazes das células.
8. Cumprir os protocolos de subcultura estabelecidos para o crescimento e manutenção contínuos da linha celular, garantindo resultados experimentais fiáveis.

### Incubation Atmosphere

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

### Flask Coating

Nenhum

### Freezing Procedure

As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente  $-78^{\circ}\text{C}$  durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

## Células RBL-2H3 | 305194

### Shipping Conditions

As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente -78 °C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

### Storage Conditions

Para conservação a longo prazo, colocar os frascos em azoto líquido em fase de vapor a uma temperatura entre -150 e -196 °C. O armazenamento a -80 °C é aceitável apenas como um curto passo intermédio antes da transferência para azoto líquido.

## Controlo de qualidade / Perfil genético / HLA

### Sterility

A contaminação por micoplasma é excluída utilizando ensaios baseados em PCR e métodos de deteção de micoplasma baseados em luminescência.

Para garantir que não há contaminação bacteriana, fúngica ou de leveduras, as culturas de células são sujeitas a inspecções visuais diárias.