

**RBL-2H3-celler | 305194****Allmän information****Description**

Cellinjen RBL-2H3 har blivit ett värdefullt verktyg för att studera mastcellsphysiologi. RBL-2H3-celler uttrycker rat mast cell protease II (RMCP-II) och receptortyrosinkinaset c-kit, vilket gör dem till en potentiell modell för mastceller. Motstridiga och ibland vilseledande uppgifter om RBL-2H3-celler har dock rapporterats.

RBL-2H3-celler har använts i stor utsträckning för att undersöka olika aspekter av mastcellsfunktionen, bland annat degranulering, mastcellsstabilisatorer och FcεRI-receptorernas interaktion med cytoskelettet. De uttrycker IgE-receptorer med hög affinitet och kan aktiveras för att utsöndra histamin och andra mediatorer. Det är relativt enkelt att odla RBL-2H3-celler, och längre odlingstider ger högre celldensitet.

Degranulering är en viktig egenskap hos RBL-2H3-celler, i likhet med mastceller och basofiler. När allergener korslänkar deras IgE-bundna FcεRI-receptorer frigör RBL-2H3-cellerna förformade och nysyntetiserade mediatorer, vilket bidrar till allergiska immunsvår. Degranuleringen av RBL-2H3-celler har också gett insikter om basofilernas degranulering. Dessa celler kan också genomgå degranulering som svar på icke-immunologiska stimuli, och det finns skillnader mellan MMC, RBL-2H3 och CTMC.

Kalcium spelar en viktig roll i degranuleringen av RBL-2H3-celler. Kalciumjonforen A23187, som ökar de intracellulära kalciumnivåerna, inducerar degranulering i RBL-2H3-celler, på samma sätt som mastceller och basofiler. I vissa studier har RBL-2H3-celler beskrivits som en serotoninfrisättande cellinje.

**Organism**

Råtta

**Tissue**

Perifert blod

**Disease**

Leukemi hos råttor

**Synonyms**

RBL2H3, RBL 2H3, RBL.2H3

**Egenskaper****Breed/Subspecies**

Wistar

**Morphology**

Fibroblast

**Growth properties**

Följsam

**Lagstadgade uppgifter****Citation**

RBL-2H3 (Cytion katalognummer 305194)

**Biosafety level**

1

**RBL-2H3-celler | 305194****NCBI\_TaxID** 10116**CellosaurusAccession** CVCL\_0591**Biomolekylära data****Hantering****Culture Medium** EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamin, w: 2,2 g/L NaHCO<sub>3</sub>, w: EBSS (Cytion artikelnummer 820100a)**Supplements** Komplettera mediet med 10% FBS och 1% NEAA**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Ta bort det gamla mediet från de adherenta cellerna och tvätta dem med PBS som saknar kalcium och magnesium. Använd 3-5 ml PBS för T25-kolvar och 5-10 ml för T75-kolvar. Täck sedan cellerna helt med Accutase, använd 1-2 ml för T25-kolvar och 2,5 ml för T75-kolvar. Låt cellerna inkubera i rumstemperatur i 8-10 minuter så att de lossnar. Efter inkubationen, blanda cellerna försiktigt med 10 ml medium för att resuspendera dem och centrifugera sedan vid 300xg i 3 minuter. Kassera supernatanten, resuspendera cellerna i färskt medium och överför dem till nya kolvar som redan innehåller färskt medium.**Split ratio** 1:2 till 1:4**Fluid renewal** 2 till 3 gånger per vecka**Freeze medium** Som kryokonservationsmedium använder vi komplett tillväxtmedium (inklusive FBS) + 10% DMSO för adekvat viabilitet efter upptining, eller CM-1 (Cytion katalognummer 800100), som innehåller optimerade osmoprotektanter och metaboliska stabilisatorer för att förbättra återhämtningen och minska kryoinducerad stress.

## RBL-2H3-celler | 305194

### Thawing and Culturing Cells

1. Bekräfta att flaskan är djupfryst vid leverans, eftersom cellerna skickas på torris för att bibehålla optimala temperaturer under transporten.
2. Vid mottagandet ska du antingen förvara kryovialen omedelbart vid temperaturer under  $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$  för att säkerställa att cellernas integritet bevaras, eller gå vidare till steg 3 om omedelbar odling krävs.
3. Vid omedelbar odling ska injektionsflaskan snabbt tinas genom att den sänks ned i ett  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$  vattenbad med rent vatten och ett antimikrobiellt medel och omrörs försiktigt i 40-60 sekunder tills en liten isklump återstår.
4. Utför alla efterföljande steg under sterila förhållanden i en flödeshuv och desinficera kryovialerna med 70 % etanol innan de öppnas.
5. Öppna försiktigt den desinficerade flaskan och överför cellsuspensionen till ett 15 ml centrifugrör som innehåller 8 ml rumstempererat odlingsmedium och blanda försiktigt.
6. Centrifugera blandningen vid  $300 \times g$  i 3 minuter för att separera cellerna och kassera försiktigt supernatanten som innehåller resterande frysmedium.
7. Resuspendera försiktigt cellpelleten i 10 ml färskt odlingsmedium. För adherenta celler, fördela suspensionen mellan två T25-kulturkolv; för suspensionskulturer, överför allt medium till en T25-kolv för att främja effektiv cellinteraktion och tillväxt.
8. Följ fastställda subkulturprotokoll för fortsatt tillväxt och underhåll av cellinjen, vilket säkerställer tillförlitliga experimentella resultat.

### Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , befuktad atmosfär.

### Flask Coating

Ingen

### Freezing Procedure

Kryopreserverade cellinjer skickas på torris i validerade, isolerade förpackningar med tillräckligt med kylmedel för att hålla cirka  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$  under hela transporten. Vid mottagandet ska behållaren omedelbart inspekteras och flaskorna utan dröjsmål överföras till lämplig förvaring.

### Shipping Conditions

Kryopreserverade cellinjer skickas på torris i validerade, isolerade förpackningar med tillräckligt med kylmedel för att hålla cirka  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$  under hela transporten. Vid mottagandet ska behållaren omedelbart inspekteras och flaskorna utan dröjsmål överföras till lämplig förvaring.

**RBL-2H3-celler | 305194**

**Storage  
Conditions**

För långtidsförvaring, placera flaskorna i flytande kväve i ångfas vid ca -150 till -196 °C. Förvaring vid -80 °C är acceptabelt endast som ett kort mellanliggande steg innan överföring till flytande kväve.

**Kvalitetskontroll / Genetisk profil / HLA**

**Sterility**

Mykoplasmakontaminering utesluts med hjälp av både PCR-baserade analyser och luminiscensbaserade metoder för mykoplasmadiagnostik.

För att säkerställa att det inte finns någon kontaminering av bakterier, svamp eller jäst utsätts cellkulturerna för dagliga visuella inspektioner.