

**Bunky RBL-2H3 | 305194****Všeobecné informácie****Description**

Bunková línia RBL-2H3 sa stala cenným nástrojom na štúdium fyziológie mastocytov. Bunky RBL-2H3 exprimujú proteázu II potkaních mastocytov (RMCP-II) a receptorovú tyrozínkinázu c-kit, čo z nich robí potenciálny model mastocytov. O bunkách RBL-2H3 sa však uvádzajú protichodné a niekedy zavádzajúce údaje.

Bunky RBL-2H3 sa široko využívajú na skúmanie rôznych aspektov funkcie mastocytov vrátane degranulácie, stabilizátorov mastocytov a interakcie receptorov FcεRI s cytoskeletom. Expresujú vysokoafinitné IgE receptory a môžu byť aktivované na vylučovanie histamínu a iných mediátorov. Kultivácia buniek RBL-2H3 je pomerne jednoduchá a dlhší čas kultivácie vedie k vyššej hustote buniek.

Degranulácia je kľúčovou vlastnosťou buniek RBL-2H3, podobne ako u žírnych buniek a bazofilov. Keď alergény zosieťujú svoje receptory FcεRI viazané na IgE, bunky RBL-2H3 uvoľňujú predformované a novo syntetizované mediátory, čo prispieva k imunitným alergickým reakciám. Degranulácia buniek RBL-2H3 umožnila nahliadnúť aj do degranulácie bazofilov. Tieto bunky môžu podliehať degranulácii aj v reakcii na neimunologické podnety a medzi MMC, RBL-2H3 a CTMC existujú rozdiely.

Úloha vápnika pri degranulácii buniek RBL-2H3 je významná. Ionofor vápnika A23187, ktorý zvyšuje intracelulárnu hladinu vápnika, vyvoláva degranuláciu v bunkách RBL-2H3 podobne ako žirne bunky a bazofily. Niektoré štúdie opísali bunky RBL-2H3 ako bunkovú líniu uvoľňujúcu serotonín.

**Organism**

Krysy

**Tissue**

Periférna krv

**Disease**

Leukémia potkanov

**Synonyms**

RBL2H3, RBL 2H3, RBL.2H3

**Charakteristika****Breed/Subspecies**

Wistar

**Morphology**

Fibroblasty

**Growth properties**

Adherent

**Regulačné údaje****Citation**

RBL-2H3 (katalógové číslo Cytion 305194)

**Biosafety level**

1

**Bunky RBL-2H3 | 305194**

NCBI\_TaxID 10116

CellosaurusAccession CVCL\_0591

**Biomolekulárne údaje****Spracovanie****Culture Medium** EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamín, w: 2,2 g/L NaHCO<sub>3</sub>, w: EBSS (Cytion číslo článku 820100a)**Supplements** Doplňte médium o 10% FBS a 1% NEAA**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Odstráňte staré médium z adherovaných buniek a premyte ich PBS, ktorý neobsahuje vápnik a horčík. Pre banky T25 použite 3 - 5 ml PBS a pre banky T75 použite 5 - 10 ml. Potom bunky úplne pokryte Accutase, pričom použite 1 - 2 ml pre banky T25 a 2,5 ml pre banky T75. Nechajte bunky inkubovať pri izbovej teplote 8-10 minút, aby sa oddelili. Po inkubácii jemne premiešajte bunky s 10 ml média, aby boli znovu suspendované, a potom ich 3 minúty odstredíte pri 300xg. Supernatant zlikvidujte, bunky znovu rozmiešajte v čerstvom médiu a preneste ich do nových fliaš, ktoré už obsahujú čerstvé médium.**Split ratio** 1:2 až 1:4**Fluid renewal** 2 až 3-krát týždenne**Freeze medium** Ako kryokonzervačné médium používame kompletne rastové médium (vrátane FBS) + 10 % DMSO na zabezpečenie primeranej životaschopnosti po rozmrazení alebo CM-1 (katalógové číslo 800100 spoločnosti Cytion), ktoré obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory na zlepšenie regenerácie a zníženie stresu spôsobeného kryom.

## Bunky RBL-2H3 | 305194

### Thawing and Culturing Cells

1. Overte si, že injekčná liekovka zostane pri doručení hlboko zmrazená, pretože bunky sa prepravujú na suchom ľade, aby sa počas prepravy udržala optimálna teplota.
2. Po prijatí buď okamžite uskladnite kryovialku pri teplote nižšej ako -150 °C, aby ste zabezpečili zachovanie bunkovej integrity, alebo prejdite na krok 3, ak je potrebná okamžitá kultivácia.
3. V prípade okamžitej kultivácie injekčnú liekovku rýchlo rozmrazte ponorením do vodného kúpeľa s teplotou 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálnym prostriedkom, pričom ju jemne miešajte 40 - 60 sekúnd, kým nezostane malý ľadový chumáč.
4. Všetky ďalšie kroky vykonajte v sterilných podmienkach v prietokovom digestore a pred otvorením kryovialku dezinfikujte 70 % etanolom.
5. Opatrne otvorte dezinfikovanú fľaštičku a preneste bunkovú suspenziu do 15 ml centrifugačnej skúmavky obsahujúcej 8 ml kultivačného média s izbovou teplotou a jemne premiešajte.
6. Zmes odstreďujte pri 300 x g počas 3 minút, aby sa bunky oddelili, a opatrne zlikvidujte supernatant obsahujúci zvyšky zmrazovacieho média.
7. Pelet buniek jemne resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačného média. V prípade adherentných buniek rozdeľte suspenziu medzi dve kultivačné banky T25; v prípade suspenzných kultúr preneste všetko médium do jednej banky T25, aby ste podporili účinnú interakciu a rast buniek.
8. Dodržiavajte zavedené subkultivačné protokoly na nepretržitý rast a udržiavanie bunkovej línie, čím sa zabezpečia spoľahlivé výsledky experimentov.

### Incubation Atmosphere

37 °C, 5 %  $\text{CO}_2$ , zvlhčená atmosféra.

### Flask Coating

Žiadne

### Freezing Procedure

Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne -78 °C počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

### Shipping Conditions

Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne -78 °C počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

## Bunky RBL-2H3 | 305194

### Storage Conditions

Na dlhodobé uchovávanie umiestnite injekčné liekovky do kvapalnej fázy dusíka v pare pri teplote približne -150 až -196 °C. Skladovanie pri teplote -80 °C je prijateľné len ako krátky prechodný krok pred presunom do tekutého dusíka.

## Kontrola kvality / Genetický profil / HLA

### Sterility

Kontaminácia mykoplazmami sa vylučuje pomocou testov založených na PCR a metód detekcie mykoplazmiem založených na luminiscencii.

Aby sa zabezpečilo, že nedošlo ku kontaminácii baktériami, hubami alebo kvasinkami, bunkové kultúry sa denne vizuálne kontrolujú.