

Celice RBL-2H3 | 305194**Splošne informacije****Description**

Celična linija RBL-2H3 je postala dragoceno orodje za preučevanje fiziologije mastocitov. Celice RBL-2H3 izražajo proteazo II (RMCP-II) in receptorsko tirozin kinazo c-kit, zato so potencialni model za mastocite. Vendar so bili o celicah RBL-2H3 sporočeni nasprotujoči si in včasih zavajajoči podatki.

Celice RBL-2H3 se pogosto uporabljajo za raziskovanje različnih vidikov delovanja mastocitov, vključno z degranulacijo, stabilizatorji mastocitov in interakcijo receptorjev FcεRI s citoskeletom. Izražajo visoko afinitetne receptorje IgE in se lahko aktivirajo za izločanje histamina in drugih mediatorjev. Gojenje celic RBL-2H3 je razmeroma enostavno, daljši čas gojenja pa omogoča večjo gostoto celic.

Degranulacija je ključna značilnost celic RBL-2H3, podobno kot pri mastocitih in bazofilih. Ko alergeni zamrežijo njihove receptorje FcεRI, vezane na IgE, celice RBL-2H3 sproščajo vnaprej pripravljene in na novo sintetizirane mediatorje, kar prispeva k imunskim alergijskim odzivom. Degranulacija celic RBL-2H3 je omogočila vpogled tudi v degranulacijo bazofilov. Te celice se lahko degranulirajo tudi kot odgovor na neimunološke dražljaje, med MMC, RBL-2H3 in CTMC pa obstajajo razlike.

Vloga kalcija pri degranulaciji celic RBL-2H3 je pomembna. Kalcijev ionofor A23187, ki poveča raven znotrajceličnega kalcija, povzroči degranulacijo celic RBL-2H3, podobno kot pri mastocitih in bazofilih. V nekaterih študijah so bile celice RBL-2H3 opisane kot celična linija, ki sprošča serotonin.

Organism Podgana**Tissue** Periferna kri**Disease** Levkemija podgan**Synonyms** RBL2H3, RBL 2H3, RBL.2H3**Značilnosti****Breed/Subspecies** Wistar**Morphology** Fibroblast**Growth properties** Pripadajoče**Regulativni podatki****Citation** RBL-2H3 (katalogska številka Cytion 305194)**Biosafety level** 1

Celice RBL-2H3 | 305194

NCBI_TaxID 10116

CellosaurusAccession CVCL_0591

Biomolekularni podatki**Ravnanje s spletno stranjo****Culture Medium** EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamin, w: 2,2 g/L NaHCO₃, w: EBSS (številka izdelka Cytion 820100a)**Supplements** Gojišče dopolnite z 10 % FBS in 1 % NEAA**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Odstranite staro gojišče z adherentnih celic in jih sperite s PBS, ki ne vsebuje kalcija in magnezija. Za bučke T25 uporabite 3-5 ml PBS, za bučke T75 pa 5-10 ml. Nato celice popolnoma prekrijte z Accutase, pri čemer uporabite 1-2 ml za bučke T25 in 2,5 ml za bučke T75. Celice pustite inkubirati pri sobni temperaturi 8-10 minut, da se ločijo. Po inkubaciji celice nežno premešajte z 10 ml gojišča, da se ponovno suspendirajo, nato jih 3 minute centrifugirajte pri 300xg. Zavržite supernatant, ponovno suspendirajte celice v svežem gojišču in jih prenesite v nove bučke, ki že vsebujejo sveže gojišče.**Split ratio** 1:2 do 1:4**Fluid renewal** 2 do 3-krat na teden**Freeze medium** Kot gojišče za kriokonzervacijo uporabljamo popolno rastno gojišče (vključno s FBS) + 10 % DMSO za ustrezno vitalnost po odmrznitvi ali CM-1 (kataloška številka 800100 podjetja Cytion), ki vključuje optimizirane osmoprotektante in presnovne stabilizatorje za izboljšanje okrevanja in zmanjšanje stresa, povzročene s kriom.

Celice RBL-2H3 | 305194

Thawing and Culturing Cells

1. Prepričajte se, da je viala ob dostavi globoko zamrznjena, saj se celice pošiljajo na suhem ledu, da se med prevozom ohranijo optimalne temperature.
2. Po prejemu krioviala takoj shranite pri temperaturi pod $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, da zagotovite ohranitev celične celovitosti, ali pa nadaljujte s korakom 3, če je potrebno takojšnje gojenje.
3. Za takojšnje gojenje vialo hitro odtalite tako, da jo potopite v vodno kopel s čisto vodo in protimikrobnim sredstvom pri $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ ter 40-60 sekund nežno mešate, dokler ne ostane majhen ledeni kepica.
4. Vse nadaljnje korake izvajajte v sterilnih pogojih v pretočni nape, pred odprtjem pa krioviala razkužite s 70 % etanolom.
5. Previdno odprite razkuženo vialo in celično suspenzijo prenesite v 15-mililitrsko centrifugirno epruveto, ki vsebuje 8 ml gojišča sobne temperature, ter nežno premešajte.
6. Mešanico centrifugirajte pri $300 \times g$ 3 minute, da ločite celice, in previdno zavržite supernatant, ki vsebuje ostanke zamrzovalnega gojišča.
7. Pelet celic nežno ponovno suspendirajte v 10 ml svežega gojišča. Pri adherentnih celicah suspenzijo razdelite med dve bučki T25; pri suspenzijskih kulturah prenesite vse gojišče v eno bučko T25, da spodbudite učinkovito interakcijo in rast celic.
8. Upoštevajte uveljavljene protokole subkultur za nadaljnjo rast in vzdrževanje celične linije ter tako zagotovite zanesljive rezultate poskusov.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5 % CO_2 , vlažno ozračje.

Flask Coating

Nič

Freezing Procedure

Kriokonzervirane celične linije se pošiljajo na suhem ledu v potrjeni, izolirani embalaži z zadostno količino hladilnega sredstva, da se med prevozom vzdržuje približno $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Ob prejemu takoj preglejte embalažo in vialo nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.

Shipping Conditions

Kriokonzervirane celične linije se pošiljajo na suhem ledu v potrjeni, izolirani embalaži z zadostno količino hladilnega sredstva, da se med prevozom vzdržuje približno $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Ob prejemu takoj preglejte embalažo in vialo nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.

Celice RBL-2H3 | 305194

Storage Conditions

Za dolgotrajno shranjevanje vial postavite v tekoči dušik v parni fazi pri približno -150 do -196 °C. Shranjevanje pri -80 °C je sprejemljivo le kot kratek vmesni korak pred prenosom v tekoči dušik.

Nadzor kakovosti / Genetski profil / HLA

Sterility

Kontaminacija z mikoplazmo se izključi z uporabo testov na podlagi PCR in metod za odkrivanje mikoplazme na podlagi luminiscence.

Da se zagotovi, da ni kontaminacije z bakterijami, glivami ali kvasovkami, se celične kulture dnevno vizualno pregledujejo.