

Κύτταρα BV2 | 305156

Γενικές πληροφορίες

Description

Τα κύτταρα BV2 είναι ένας τύπος μικρογλοιακών κυτταρικών σειρών που προέρχονται από τον αρουραίο C57BL/6, ένα ευρέως χρησιμοποιούμενο στέλεχος εργαστηριακών ποντικών για πειράματα σε ζώα. Αυτά τα μικρογλοιακά κύτταρα έχουν αθανασιστεί με τη χρήση του ρετροϊού J2, ο οποίος φέρει τα ογκογονίδια *v-raf* και *v-myc*, με αποτέλεσμα τη δημιουργία μιας σταθερής κυτταρικής σειράς με μοναδικά χαρακτηριστικά. Τα κύτταρα BV2 εκφράζουν πυρηνικά ογκογονίδια *v-myc* και κυτταροπλασματικά ογκογονίδια *v-RAF*, μαζί με το αντιγόνο *enp gp70* στην επιφάνειά τους, συμβάλλοντας στο ρόλο τους στις ανοσολογικές αποκρίσεις και τη φλεγμονή εντός του εγκεφάλου. Ένα από τα κρίσιμα πλεονεκτήματα των κυττάρων BV2 είναι η ικανότητά τους να διατηρούν τα μορφολογικά και λειτουργικά χαρακτηριστικά της πρωτογενούς μικρογλοίας, των μόνιμων ανοσοποιητικών κυττάρων του κεντρικού νευρικού συστήματος, γεγονός που τα καθιστά ιδανικό μοντέλο για τη μελέτη της νευροεκφύλισης και της φλεγμονής του εγκεφάλου.

Ο ρόλος της μικρογλοίας στη νευροεκφύλιση, την τοξικολογία και την ανοσία, ιδίως σε καταστάσεις όπως η νόσος του Alzheimer, αποτελεί ένα συνεχώς αναπτυσσόμενο πεδίο της βιοϊατρικής έρευνας. Οι παραδοσιακές μελέτες βασίζονται συχνά σε πρωτογενείς καλλιέργειες μικρογλοίας και σε συνεχή κυτταρικά παρασκευάσματα. Η χρήση μιας κυτταρικής σειράς που μοιάζει με μικρογλοία, όπως τα κύτταρα BV2, προσφέρει μια πολλά υποσχόμενη εναλλακτική λύση παρέχοντας μια συνεχή και αναπαραγωγίμη πηγή μικρογλοίας. Τα κύτταρα BV2, λόγω της έκφρασης *v-raf/v-myc*, παρουσιάζουν ενισχυμένο μεταβολισμό και ανάπτυξη, ιδανικά για την έρευνα σχετικά με την ενεργοποίηση και τη φλεγμονή των μικρογλοίων. Η έκφραση συγκεκριμένων ογκογονιδίων και αντιγόνων τους αντικατοπτρίζει τα μακροφάγα, καθιστώντας τα πολύτιμα για τη μελέτη ανοσολογικών αποκρίσεων και μηχανισμών ασθενειών.

Μια πρόσφατη επαναξιολόγηση των κυττάρων μικρογλοίας BV2 ποντικών εξέτασε την καταλληλότητά τους ως υποκατάστατο της πρωτογενούς μικρογλοίας (PM). Η απόκριση των κυττάρων BV2 στον λιποπολυσακχαρίτη συγκρίθηκε με εκείνη της μικρογλοίας τόσο σε *in vitro* όσο και σε *in vivo* περιβάλλοντα, ωστόσο, η ρύθμιση των γονιδίων ήταν ελαφρώς λιγότερο έντονη κατά μέσο όρο. Τα κύτταρα BV2 εμφάνισαν φυσιολογική ρύθμιση του μονοξειδίου του αζώτου και λειτουργική απόκριση στην IFN- γ , κρίσιμες παραμέτρους για την αλληλεπίδρασή τους με τα T κύτταρα, τους νευρώνες και άλλα γλοιακά κύτταρα, όπως τα αστροκύτταρα. Διαπιστώθηκε επίσης ότι τα κύτταρα BV2 διεγείρουν αποτελεσματικά άλλα γλοιακά κύτταρα, οδηγώντας στην παραγωγή ιντερλευκίνης-6 (IL-6) στα αστροκύτταρα.

Αυτή η αλληλεπίδραση μεταξύ αστροκυττάρων και μικρογλοίας είναι ζωτικής σημασίας για την κατανόηση των πολύπλοκων αλληλεπιδράσεων κυττάρων-κυττάρων και της φλεγμονώδους απόκρισης στον εγκεφαλο, ιδίως στο πλαίσιο νευροεκφυλιστικών ασθενειών όπως η νόσος Αλτσχάιμερ, όπου πρωτεΐνες όπως οι NARo31 και NARo41, καθώς και μονοπάτια όπως η απόκριση εκκίνησης και η απόπτωση, διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο.

Τα κύτταρα BV2 προσφέρουν ένα στιβαρό και αξιόπιστο εργαλείο για τους ερευνητές της βιολογίας των μικρογλοίων. Η έκφραση των προϊόντων του ογκογονιδίου *v-raf/v-myc* τους επιτρέπει να διατηρούν βασικά χαρακτηριστικά της μικρογλοίας και των μακροφάγων. Τα κύτταρα BV2 έχουν αποδειχθεί έγκυρο υποκατάστατο της πρωτογενούς μικρογλοίας σε διάφορα πειραματικά περιβάλλοντα, διευκολύνοντας την έρευνα για τον νευροεκφυλισμό, την τοξικολογία, την ανοσία και τις αλληλεπιδράσεις κυττάρων-κυττάρων.

Organism Ποντίκι

Tissue Εγκέφαλος

Synonyms BV-2

Κύτταρα BV2 | 305156

Χαρακτηριστικά

Breed/Subspecies	C57BL/6
Age	1 εβδομάδα
Gender	Γυναίκα
Morphology	Μορφολογία μικρογλοιακών
Growth properties	Προσκολλημένο

Ρυθμιστικά δεδομένα

Citation	BV2 (αριθμός καταλόγου Cytion 305156)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	10090
CellosaurusAccession	CVCL_0182

Βιομοριακά δεδομένα

Χειρισμός

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM σταθερής γλουταμίνης, w: 2,0 g/L NaHCO ₃ (αριθμός άρθρου Cytion 820700a)
Supplements	Συμπληρώστε το μέσο με 10% FBS
Dissociation Reagent	Accutase

Subculturing Συγκεντρώστε τα εναιωρήματα σε ένα σωληνάριο των 15 ml και πλύνετε απαλά τα προσκολλημένα κύτταρα με PBS χωρίς ασβέστιο και μαγνήσιο (χρησιμοποιήστε 3-5 ml για φιάλες T25 και 5-10 ml για φιάλες T75). Εφαρμόστε Accutase (1-2 ml για φιάλες T25, 2,5 ml για φιάλες T75) εξασφαλίζοντας πλήρη κάλυψη της κυτταρικής στιβάδας. Αφήστε τα κύτταρα να επωαστούν σε θερμοκρασία δωματίου για 10 λεπτά. Μετά την επώαση, συνδυάστε και φυγοκεντρίστε τόσο το εναιώρημα όσο και τα προσκολλημένα κύτταρα. Μετά τη φυγοκέντρηση, ανασυγκεντρώστε προσεκτικά το κυτταρικό σφαιρίδιο και μεταφέρετε το εναιώρημα κυττάρων σε νέες φιάλες που περιέχουν φρέσκο μέσο.

Κύτταρα BV2 | 305156**Fluid renewal** 2 έως 3 φορές την εβδομάδα**Freeze medium** Ως μέσο κρυοσυντήρησης, χρησιμοποιούμε πλήρες μέσο ανάπτυξης (συμπεριλαμβανομένου του FBS) + 10% DMSO για επαρκή βιωσιμότητα μετά την απόψυξη, ή CM-1 (αριθμός καταλόγου Cytion 800100), το οποίο περιλαμβάνει βελτιστοποιημένα ωσμοπροστατευτικά και μεταβολικούς σταθεροποιητές για την ενίσχυση της ανάκαμψης και τη μείωση του στρες που προκαλείται από την κρυοσυντήρηση.**Thawing and Culturing Cells**

1. Επιβεβαιώστε ότι το φιαλίδιο παραμένει βαθιά παγωμένο κατά την παράδοση, καθώς τα κύτταρα αποστέλλονται σε ξηρό πάγο για να διατηρούνται οι βέλτιστες θερμοκρασίες κατά τη μεταφορά.
2. Κατά την παραλαβή, είτε αποθηκεύστε το κρυοφιαλίδιο αμέσως σε θερμοκρασίες κάτω των -150°C για να διασφαλίσετε τη διατήρηση της κυτταρικής ακεραιότητας, είτε προχωρήστε στο βήμα 3 εάν απαιτείται άμεση καλλιέργεια.
3. Για άμεση καλλιέργεια, αποψύξτε γρήγορα το φιαλίδιο βυθίζοντάς το σε υδατόλουτρο 37°C με καθαρό νερό και αντιμικροβιακό παράγοντα, αναδεύοντας απαλά για 40-60 δευτερόλεπτα μέχρι να παραμείνει ένα μικρό σβόλο πάγου.
4. Εκτελέστε όλα τα επόμενα βήματα υπό αποστειρωμένες συνθήκες σε απορροφητήρα ροής, απολυμαίνοντας το κρυοφιαλίδιο με 70% αιθανόλη πριν από το άνοιγμα.
5. Ανοίξτε προσεκτικά το απολυμασμένο φιαλίδιο και μεταφέρετε το εναιώρημα των κυττάρων σε ένα σωληνάριο φυγοκέντρησης των 15 ml που περιέχει 8 ml θρεπτικού μέσου καλλιέργειας σε θερμοκρασία δωματίου, αναμειγνύοντας απαλά.
6. Φυγοκεντρίστε το μείγμα στα $300 \times g$ για 3 λεπτά για να διαχωριστούν τα κύτταρα και απορρίψτε προσεκτικά το υπερκείμενο που περιέχει το υπόλοιπο μέσο κατάψυξης.
7. Επανασυσσωματώστε απαλά το κυτταρικό σφαιρίδιο σε 10 ml φρέσκου μέσου καλλιέργειας. Για προσκολλημένα κύτταρα, μοιράστε το εναιώρημα σε δύο φιάλες καλλιέργειας T25- για καλλιέργειες εναιωρήματος, μεταφέρετε όλο το μέσο σε μία φιάλη T25 για να προωθήσετε την αποτελεσματική αλληλεπίδραση και ανάπτυξη των κυττάρων.
8. Τηρείτε τα καθιερωμένα πρωτόκολλα υποκαλλιέργειας για τη συνεχή ανάπτυξη και διατήρηση της κυτταρικής σειράς, εξασφαλίζοντας αξιόπιστα πειραματικά αποτελέσματα.

Incubation Atmosphere 37°C , 5% CO_2 , υγραποιημένη ατμόσφαιρα.**Flask Coating** Για βέλτιστη προσκόλληση και βιωσιμότητα μετά την απόψυξη, συνιστούμε τη χρήση **φιαλών ή πλακών με επικάλυψη κολλαγόνου**.

Κύτταρα BV2 | 305156

Freezing Procedure

Οι κρυοσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των -78°C καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.

Shipping Conditions

Οι κρυοσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των -78°C καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.

Storage Conditions

Για μακροχρόνια συντήρηση, τοποθετήστε τα φιαλίδια σε υγρό άζωτο σε φάση ατμών σε θερμοκρασία περίπου -150 έως -196°C . Η αποθήκευση στους -80°C είναι αποδεκτή μόνο ως σύντομο ενδιάμεσο βήμα πριν από τη μεταφορά σε υγρό άζωτο.

Ποιοτικός έλεγχος / Γενετικό προφίλ / HLA

Sterility

Η μόλυνση από μυκόπλασμα αποκλείεται με τη χρήση τόσο των δοκιμασιών που βασίζονται στην PCR όσο και των μεθόδων ανίχνευσης μυκοπλάσματος με βάση τη φωταύγεια.

Για να διασφαλιστεί ότι δεν υπάρχει μόλυνση από βακτήρια, μύκητες ή ζύμες, οι κυτταροκαλλιέργειες υποβάλλονται σε καθημερινές οπτικές επιθεωρήσεις.