

BV2 ląstelės | 305156

Bendra informacija

Description

BV2 ląstelės yra mikroglijos ląstelių linija, gauta iš C57BL/6 pelės, plačiai naudojamos laboratorinių pelių padermės eksperimentams su gyvūnais. Šios mikroglijos ląstelės buvo imortalizuotos naudojant J2 retrovirusą, kuriame yra v-raf ir v-myc onkogenai, todėl buvo sukurta stabili ląstelių linija, pasižyminti unikaliomis savybėmis. BV2 ląstelės išreiškia branduolio v-myc ir citoplazmos v-RAF onkogenus, taip pat savo paviršiuje turi env gp70 antigeną, todėl jos atlieka svarbų vaidmenį imuninėse reakcijose ir smegenų uždegime. Vienas iš svarbiausių BV2 ląstelių privalumų yra tai, kad jos išlaiko morfologines ir funkcines pirminės mikroglijos, centrinės nervų sistemos imuninių ląstelių rezidentų, savybes, todėl jos yra idealus neurodegeneracijos ir smegenų uždegimo tyrimo modelis.

Mikroglijos vaidmuo neurodegeneracijoje, toksikologijoje ir imunitete, ypač tokiose ligose kaip Alzheimerio liga, yra nuolat auganti biomedicininis tyrimų sritis. Tradiciniai tyrimai dažnai remiasi pirminėmis mikroglijos kultūromis ir nuolatiniais ląstelių preparatais. Daug žadanti alternatyva yra į mikroglijas panaši ląstelių linija, pavyzdžiui, BV2 ląstelės, nes ji yra nuolatinis ir atkuriamas mikroglijų šaltinis. BV2 ląstelės dėl v-raf/v-myc raiškos pasižymi geresne medžiagų apykaita ir augimu, o tai idealiai tinka mikroglijos aktyvacijos ir uždegimo tyrimams. Jų specifinių onkogenų ir antigenų raiška atspindi makrofagus, todėl jos vertingos tiriant imunines reakcijas ir ligų mechanizmus.

Neseniai iš naujo įvertinus pelių BV2 mikroglijos ląsteles, ištirtas jų tinkamumas kaip pirminės mikroglijos (PM) pakaitalui. BV2 ląstelių atsakas į lipopolisacharidą buvo lyginamas su mikroglijos atsaku tiek in vitro, tiek in vivo sąlygomis, tačiau genų reguliacija vidutiniškai buvo šiek tiek mažiau išreikšta. BV2 ląstelės pasižymėjo normaliu azoto oksido reguliavimu ir funkcinio atsaku į IFN- γ gamą, t. y. parametrais, kurie yra labai svarbūs jų sąveikai su T ląstelėmis, neuronais ir kitomis glijos ląstelėmis, pavyzdžiui, astrocituais. Taip pat nustatyta, kad BV2 ląstelės veiksmingai stimuliuoja kitas glijos ląsteles, todėl astrocituose gaminamas interleukinas-6 (IL-6).

Ši astrocitų ir mikroglijos sąveika yra labai svarbi siekiant suprasti sudėtingą ląstelių ir ląstelių sąveiką ir uždegiminį atsaką smegenyse, ypač tokių neurodegeneracinių ligų, kaip Alzheimerio liga, kontekste, kur tokie baltymai, kaip NAPoe31 ir NAPoe41, taip pat tokie keliai, kaip atsakas į išgąstį ir apoptozę, vaidina svarbų vaidmenį.

BV2 ląstelės yra tvirtas ir patikimas įrankis mikroglijos biologijos tyrėjams. Jų v-raf/v-myc onkogeno produktų raiška leidžia joms išlaikyti pagrindines mikroglijos ir makrofagų savybes. Įvairiose eksperimentinėse aplinkose BV2 ląstelės pasirodė esančios tinkamas pirminių mikroglijų pakaitalas, palengvinantis neurodegeneracijos, toksikologijos, imuniteto ir ląstelių sąveikos tyrimus.

Organism	Pelė
----------	------

Tissue	Smegenys
--------	----------

Synonyms	BV-2
----------	------

Charakteristikos

Breed/Subspecies	C57BL/6
------------------	---------

BV2 ląstelės | 305156

Age	1 savaitė
Gender	Moteris
Morphology	Morfologija mikroglijos
Growth properties	Priglundęs

Reguliavimo duomenys

Citation	BV2 (Cytion katalogo numeris 305156)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	10090
CellosaurusAccession	CVCL_0182

Biomolekuliniai duomenys

Tvarkymas

Culture Medium	RPMI 1640, š: 2,0 mM stabilus glutaminas, š: 2,0 g/L NaHCO ₃ (Cytion gaminio numeris 820700a)
Supplements	Papildykite terpę 10 % FBS
Dissociation Reagent	Accutase

Subculturing	Surinkite ląstelių suspensiją į 15 ml mėgintuvėlį ir švelniai nuplaukite prilipusias ląsteles PBS, kuriame nėra kalcio ir magnio (naudokite 3-5 ml T25 kolboms ir 5-10 ml T75 kolboms). Užtepkite "Accutase" (1-2 ml T25 kolboms, 2,5 ml T75 kolboms), kad visiškai padengtumėte ląstelių sluoksnį. Leiskite ląstelėms 10 minučių inkubuotis kambario temperatūroje. Po inkubacijos sumaišykite ir centrifuguokite suspensiją ir prilipusias ląsteles. Po centrifugavimo atsargiai resuspenduokite ląstelių granules ir perkeltite ląstelių suspensiją į naujas kolbas su šviežia terpe.
--------------	--

Fluid renewal	2-3 kartus per savaitę
---------------	------------------------

BV2 ląstelės | 305156

**Freeze
medium**

Kaip kriokonservavimo terpę naudojame visišką augimo terpę (įskaitant FBS) + 10 % DMSO, kad būtų užtikrintas tinkamas gyvybingumas po atšildymo, arba CM-1 (Cytion katalogo numeris 800100), kurioje yra optimizuotų osmoprotektorių ir medžiagų apykaitos stabilizatorių, kad būtų pagerintas atsigavimas ir sumažintas kriokonservavimo sukeltas stresas.

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Patikrinkite, ar pristatant buteliuką jis išlieka gerai užšaldytas, nes ląstelės gabenamos ant sauso ledo, kad gabenimo metu būtų palaikoma optimali temperatūra.
2. Gavę iš karto laikykite kriovialą žemesnėje nei -150°C temperatūroje, kad užtikrintumėte ląstelių vientisumo išsaugojimą, arba pereikite prie 3 veiksmo, jei reikia nedelsiant kultivuoti.
3. Jei norite nedelsiant pradėti kultivuoti, greitai atšildykite buteliuką panardindami jį į 37°C temperatūros vandens vonelę su švariu vandeniu ir antimikrobine priemone, švelniai maišydami 40-60 sekundžių, kol liks nedidelis ledo gabalėlis.
4. Visus tolesnius veiksmus atlikite steriliomis sąlygomis srauto gaubte, prieš atidarydami kriovialą dezinfekuokite jį 70 % etanoliu.
5. Atsargiai atidarykite dezinfekuotą buteliuką ir perpilkite ląstelių suspensiją į 15 ml centrifugos mėgintuvėlį, kuriame yra 8 ml kambario temperatūros mitybinės terpės, atsargiai išmaišykite.
6. Mišinį centrifuguokite $300 \times g$ greičiu 3 minutes, kad atsiskirtų ląstelės, ir atsargiai išmeskite supernatantą su šaldymo terpės likučiais.
7. Švelniai resuspenduokite ląstelių granules 10 ml šviežios mitybinės terpės. Jei ląstelės yra prigludusios, suspensiją padalykite į dvi T25 kolbas; jei tai suspensinės kultūros, visą terpę perkelkite į vieną T25 kolbą, kad paskatintumėte veiksmingą ląstelių sąveiką ir augimą.
8. Laikykitės nustatytų subkultūrų protokolų, kad ląstelių linija nuolat augtų ir būtų palaikoma, taip užtikrinant patikimus eksperimentų rezultatus.

**Incubation
Atmosphere**

37°C , 5 % CO_2 , drėkintoje atmosferoje.

Flask Coating

Kad po atšildymo būtų užtikrintas optimalus prisitvirtinimas ir gyvybingumas, rekomenduojame naudoti **kolagenu dengtas kolbas arba plokšteles**.

BV2 ląstelės | 305156

Freezing Procedure

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug -78 °C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkeltite mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

Shipping Conditions

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug -78 °C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkeltite mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

Storage Conditions

Norėdami ilgai saugoti, įdėkite buteliukus į garų fazės skystą azotą maždaug -150-196 °C temperatūroje. Laikymas -80 °C temperatūroje yra priimtinas tik kaip trumpas tarpinis etapas prieš perkeliant į skystąjį azotą.

Kokybės kontrolė / Genetinis profilis / HLA

Sterility

Mikoplazmos užterštumas atmetamas taikant PGR pagrįstus tyrimus ir liuminescencinius mikoplazmos aptikimo metodus.

Siekiant užtikrinti, kad nebūtų užteršimo bakterijomis, grybeliais ar mielėmis, ląstelių kultūros kasdien vizualiai tikrinamos.