

BV2 šūnas | 305156

Vispārīga informācija

Description

BV2 šūnas ir mikroglia šūnu līnija, kas iegūta no C57BL/6 peles, kas ir plaši izmantots laboratorijas peļu celms eksperimentos ar dzīvniekiem. Šīs mikroglia šūnas ir immortalizētas, izmantojot J2 retrovirusu, kas nes v-raf un v-myc onkogēnus, tādējādi iegūstot stabilu šūnu līniju ar unikālām īpašībām. BV2 šūnas ekspresē kodolu v-myc un citoplazmas v-RAF onkogēnus, kā arī env gp70 antigēnu uz to virsmas, kas veicina to lomu imūnās reakcijās un iekaisumā smadzenēs. Viena no būtiskākajām BV2 šūnu priekšrocībām ir to spēja saglabāt morfoloģiskās un funkcionālās īpašības, kas raksturīgas primārajām mikroglijām - centrālās nervu sistēmas rezidentu imūnšūnām, padarot tās par ideālu modeli neirodeģenerācijas un smadzeņu iekaisuma izpētei.

Mikroglia loma neirodeģenerācijā, toksikoloģijā un imunitātē, jo īpaši tādās slimībās kā Alcheimera slimība, ir arvien pieaugoša biomedicīnas pētījumu joma. Tradicionālajos pētījumos bieži tiek izmantotas primārās mikroglia kultūras un nepārtraukti šūnu preparāti. Daudzsoļu alternatīvu piedāvā mikroglijām līdzīgu šūnu līniju, piemēram, BV2 šūnu, izmantošana, jo tā nodrošina nepārtrauktu un reproducējamu mikroglia avotu. BV2 šūnām v-raf/v-myc ekspresijas dēļ ir uzlabota vielmaiņa un augšana, kas ir ideāli piemērotas mikroglia aktivācijas un iekaisuma pētījumiem. To specifisko onkogēnu un antigēnu ekspresija atspoguļo makrofāgu ekspresiju, padarot tās vērtīgas imūnās reakcijas un slimību mehānismu izpētei.

Nesen veiktā peļu BV2 mikroglia šūnu atkārtotā novērtēšanā tika pārbaudīta to piemērotība kā primārās mikroglia (PM) aizstājējam. BV2 šūnu reakcija uz lipopolisaharīdu tika salīdzināta ar mikroglia reakciju gan in vitro, gan in vivo apstākļos, tomēr gēnu augšējā regulācija vidēji bija nedaudz mazāk izteikta. BV2 šūnas uzrādīja normālu slāpekļa oksīda regulāciju un funkcionālo reakciju uz IFN-gamma, kas ir kritiski parametri to mijiedarbībai ar T šūnām, neironiem un citām glijas šūnām, piemēram, astrocītiem. Tika konstatēts, ka BV2 šūnas efektīvi stimulē arī citas glijas šūnas, izraisot interleikīna-6 (IL-6) veidošanos astrocītos.

Šī mijiedarbība starp astrocītiem un mikroglia ir ļoti svarīga, lai izprastu sarežģīto šūnu un šūnu mijiedarbību un iekaisuma reakciju smadzenēs, jo īpaši saistībā ar tādām neirodeģeneratīvām slimībām kā Alcheimera slimība, kur nozīmīga loma ir tādiem proteīniem kā NAPoe31 un NAPoe41, kā arī tādiem ceļiem kā startle reakcija un apoptoze.

BV2 šūnas ir stabils un uzticams instruments mikroglia bioloģijas pētniekiem. To v-raf/v-myc onkogēna produktu ekspresija ļauj tām saglabāt galvenās mikroglia un makrofāgu īpašības. BV2 šūnas ir pierādījušas, ka tās ir derīgs primārās mikroglia aizstājējs dažādos eksperimentālos apstākļos, atvieglojot neirodeģenerācijas, toksikoloģijas, imunitātes un šūnu un šūnu mijiedarbības pētījumus.

Organism	Pele
----------	------

Tissue	Smadzenes
--------	-----------

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

Raksturojums

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

Age	1 nedēļa
-----	----------

BV2 šūnas | 305156

Gender	Sievietes
Morphology	Mikrogliju morfoloģija
Growth properties	Adherent

Normatīvie dati

Citation	BV2 (Cytion kataloga numurs 305156)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	10090
CellosaurusAccession	CVCL_0182

Biomolekulārie dati

Darbs ar

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM stabils glutamīns, w: 2,0 g/L NaHCO ₃ (Cytion izstrādājuma numurs 820700a)
Supplements	Papildināt barotni ar 10% FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Savāc suspensijas šūnas 15 ml mēģenē un saudzīgi izmazgā pielipušās šūnas ar PBS bez kalcija un magnija (T25 kolbām izmanto 3-5 ml, bet T75 kolbām - 5-10 ml). Uzklājiel Accutase (1-2 ml T25 kolbām, 2,5 ml T75 kolbām), nodrošinot pilnīgu šūnu slāņa pārklājumu. Ļaujiet šūnām inkubēties istabas temperatūrā 10 minūtes. Pēc inkubācijas apvienot un centrifugēt gan suspensiju, gan pielipušās šūnas. Pēc centrifugēšanas uzmanīgi resuspendēt šūnu granulas un pārvietot šūnu suspensiju jaunās kolbās ar svaigu barotni.
Fluid renewal	2 līdz 3 reizes nedēļā
Freeze medium	Kā kriokonservēšanas barotni mēs izmantojam pilnvērtīgu augšanas barotni (ieskaitot FBS) + 10 % DMSO, lai nodrošinātu pietiekamu dzīvotspēju pēc atkausēšanas, vai CM-1 (Cytion kataloga numurs 800100), kas ietver optimizētus osmoprotektorus un metaboliskos stabilizatorus, lai uzlabotu atveseļošanos un samazinātu krioinducēto stresu.

BV2 šūnas | 305156

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Pārliecinieties, ka pēc piegādes flakons paliek dziļi sasaldēts, jo šūnas tiek sūtītas uz sausā ledus, lai pārvadāšanas laikā saglabātu optimālu temperatūru.
2. Pēc saņemšanas vai nu nekavējoties uzglabāt kriovialu temperatūrā, kas zemāka par -150 °C, lai nodrošinātu šūnu integritātes saglabāšanu, vai arī turpināt 3. posmu, ja nepieciešama tūlītēja kultivēšana.
3. Tūlītējas kultivēšanas gadījumā ātri atkausējiet flakonu, iegremdējot to 37°C ūdens vannā ar tīru ūdeni un antibakteriālu līdzekli, viegli maisot 40-60 sekundes, līdz paliek neliels ledus gabaliņš.
4. Visas turpmākās darbības veiciet sterilos apstākļos plūsmas nosūcējā, pirms atvēršanas dezinficējot kriovialu ar 70% etanolu.
5. Uzmanīgi atveriet dezinficēto flakonu un pārnesiet šūnu suspensiju 15 ml centrifūgas mēģenē, kurā ir 8 ml istabas temperatūras barotnes, uzmanīgi samaisot.
6. Centrifugējiet maisījumu ar 300 x g 3 minūtes, lai atdalītu šūnas, un uzmanīgi izmetiet virskārtu, kas satur saldēšanas barotnes atlikumus.
7. Viegli resuspendēt šūnu granulas 10 ml svaigas barotnes. Adhēzijas šūnu gadījumā suspensiju sadalīt divās T25 kolbās; suspensijas kultūrām visu barotni pārnest vienā T25 kolbā, lai veicinātu efektīvu šūnu mijiedarbību un augšanu.
8. Ievērojiet noteiktos subkultūru protokolus, lai nodrošinātu nepārtrauktu šūnu līnijas augšanu un uzturēšanu, tādējādi nodrošinot uzticamus eksperimentu rezultātus.

**Incubation
Atmosphere**

37°C, 5% CO_2 , mitrināta atmosfēra.

Flask Coating

Optimālai piestiprināšanai un dzīvotspējai pēc atkausēšanas ieteicams izmantot **ar kolagēnu pārklātas kolbas vai plates**.

**Freezing
Procedure**

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidruma daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

BV2 šūnas | 305156

Shipping Conditions

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidruma daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

Storage Conditions

Ilgstošai uzglabāšanai flakonus ievietojiet šķidrā slāpekļī ar tvaika fāzi aptuveni -150 līdz -196 °C temperatūrā. Uzglabāšana -80 °C temperatūrā ir pieļaujama tikai kā īss starposms pirms pārvietošanas uz šķidro slāpekli.

Kvalitātes kontrole / Ģenētiskais profils / HLA

Sterility

Mikoplazmas piesārņojums tiek izslēgts, izmantojot gan uz PCR balstītus testus, gan uz luminiscenci balstītas mikoplazmas noteikšanas metodes.

Lai pārlicinātos, ka nav baktēriju, sēnīšu vai rauga piesārņojuma, šūnu kultūras katru dienu vizuāli pārbauda.