

BV2 rakud | 305156

Üldine teave

Description

BV2 rakud on mikrogliaarakkude liin, mis on saadud C57BL/6 hiirtest, mis on loomkatsetes laialdaselt kasutatav laborihiiretüvi. Need mikrogliaarakud on immortaliseeritud, kasutades J2 retroviirust, mis kannab v-raf ja v-myc onkogeene, mille tulemuseks on unikaalsete omadustega stabiilne rakuliin. BV2 rakud ekspresseerivad tuuma v-myc ja tsütoplasma v-RAF onkogeene koos env gp70 antigeeniga oma pinnal, mis aitab kaasa nende rollile immuunreaktsioonides ja põletikus ajus. Üks BV2 rakkude kriitilisi eeliseid on nende võime säilitada kesknärvisüsteemi residentist immuunrakkude, primaarse mikroglia morfoloogilised ja funktsionaalsed omadused, mis teeb neist ideaalse mudeli neurodegeneratsiooni ja ajupõletiku uurimiseks.

Mikroglia roll neurodegeneratsioonis, toksikoloogias ja immuunsuses, eriti sellistes seisundites nagu Alzheimeri tõbi, on biomeditsiiniuuringute üha kasvav valdkond. Traditsioonilised uuringud tuginevad sageli primaarsetele mikroglia kultuuridele ja pidevatele rakupreparaatidele. Mikroglia-taoliste rakuliinide, näiteks BV2 rakkude kasutamine pakub paljulubavat alternatiivi, kuna see pakub pidevat ja korratavat mikroglia allikat. BV2 rakud näitavad tänu v-raf/v-myc ekspressioonile tõhustatud ainevahetust ja kasvu, mis on ideaalne mikroglia aktiveerimise ja põletiku uurimisel. Nende spetsiifiliste onkogeenide ja antigeenide ekspressioon peegeldab makrofaage, mistõttu on nad väärtuslikud immuunvastuste ja haiguste mehhanismide uurimiseks.

Hiirte BV2 mikrogliaarakkude hiljutises ümberhindamises uuriti nende sobivust primaarse mikroglia (PM) asendajana. BV2-rakkude reaktsiooni lipopolüsahhariidile võrreldi mikroglia reaktsiooniga nii in vitro kui ka in vivo, kusjuures geenide ülereguleerimine oli keskmiselt veidi vähem väljendunud. BV2 rakud näitasid normaalset lämmastikoksiidi regulatsiooni ja funktsionaalset vastust IFN-gammale, mis on kriitilised parameetrid nende koostoimimiseks T-rakkude, neuronite ja teiste gliarakkude, näiteks astrotsüütidega. Samuti leiti, et BV2 rakud stimuleerivad tõhusalt teisi gliarakke, mis viib interleukiin-6 (IL-6) tootmisele astrotsüütides.

See astrotsüütide ja mikroglia vaheline koostoime on oluline, et mõista keerulisi rakkude ja rakkude vastastikmõjusid ja põletikuvastust ajus, eriti selliste neurodegeneratiivsete haiguste nagu Alzheimeri tõbi kontekstis, kus sellised valgud nagu NAPoe31 ja NAPoe41, samuti sellised teed nagu startle-reaktsioon ja apoptoos, mängivad olulist rolli.

BV2 rakud pakuvad mikroglia bioloogiat uurivatele teadlastele tugevat ja usaldusväärset vahendit. Nende v-raf/v-myc onkogeeni toodete ekspressioon võimaldab neil säilitada mikroglia ja makrofaagide põhilised omadused. BV2 rakud on osutunud erinevates katsetes primaarse mikroglia kehtivaks asendajaks, hõlbustades neurodegeneratsiooni, toksikoloogia, immuunsuse ja rakkude ja rakkude koostoimete uurimist.

Organism Hiir

Tissue Aju

Synonyms BV-2

Omadused

Breed/Subspecies C57BL/6

Age 1 nädal

BV2 rakud | 305156

Gender	Naised
Morphology	Morfoloogia mikrogliaalne
Growth properties	Kinnipeetav

Regulatiivsed andmed

Citation	BV2 (Cytioni katalooginumber 305156)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	10090
CellosaurusAccession	CVCL_0182

Biomolekulaarsed andmed

Töötlemine

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM stabiilne glutamiin, w: 2,0 g/L NaHCO ₃ (Cytioni artikli number 820700a)
Supplements	Täiendada söötme 10% FBS-ga
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Koguge suspensioonirakud 15 ml tuubi ja peske kleepunud rakud ettevaatlikult PBS-ga, milles puudub kaltsium ja magneesium (kasutage 3-5 ml T25 kolbide puhul ja 5-10 ml T75 kolbide puhul). Kandke Accutase'i (1-2 ml T25 kolvidesse, 2,5 ml T75 kolvidesse), tagades rakukihi täieliku katvuse. Laske rakkudel 10 minutit toatemperatuuril inkubeerida. Pärast inkubeerimist ühendage ja tsentrifuugige nii suspensioon kui ka adherentsed rakud. Pärast tsentrifuugimist resuspendeerige rakupellet ettevaatlikult ja kandke raku suspensioon uutesse kolvidesse, mis sisaldavad värsket söötmeainet.
Fluid renewal	2 kuni 3 korda nädalas
Freeze medium	Krüsosäilitusvedelikusena kasutame täielikku kasvukeskkonda (sh FBS) + 10% DMSO, et tagada piisav elujõulisus pärast sulatamist, või CM-1 (Cytioni katalooginumber 800100), mis sisaldab optimeeritud osmoprotektante ja metaboolseid stabilisaatoreid, et parandada taastumist ja vähendada krüostressi.

BV2 rakud | 305156

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Veenduge, et vial jääb tarnimisel sügavkülmutatud, sest rakud transporditakse kuiva jääga, et säilitada optimaalne temperatuur transpordi ajal.
2. Pärast kättesaamist säilitage krüoviaal kas kohe temperatuuril alla $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, et tagada rakkude terviklikkuse säilimine, või jätkake sammuga 3, kui on vaja koheselt kultiveerida.
3. Kohese kultiveerimise korral sulatage viali kiiresti, kastes selle $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ veevanni puhta vee ja antimikroobse ainega, segades seda õrnalt 40-60 sekundit, kuni alles jääb väike jääklomp.
4. Tehke kõik järgmised toimingud steriilsetes tingimustes vooluhoodis, desinfitseerides krüoviaal enne avamist 70% etanooliga.
5. Avage desinfitseeritud viali ettevaatlikult ja viige raku suspensioon ettevaatlikult segades 15 ml tsentrifuugitorusse, mis sisaldab 8 ml toatemperatuuril olevat kasvukeskkonda.
6. Rakkude eraldamiseks tsentrifuugige segu $300 \times g$ juures 3 minutit ja visake ülejäänud külmutusvedelikku sisaldav supernatant ettevaatlikult ära.
7. Resuspendeerige rakupellet ettevaatlikult 10 ml värskes kasvukeskkonnas. Adhereerivate rakkude puhul jagage suspensioon kahe T25 kultuurkolvi vahel; suspensioonikultuuride puhul kandke kogu söötme keskkond ühte T25 kolbi, et soodustada rakkude tõhusat koostoimet ja kasvu.
8. Järgige kehtestatud subkultuuriprotokolle rakuliini jätkuvaks kasvuks ja säilitamiseks, tagades usaldusväärsed katsetulemused.

**Incubation
Atmosphere**

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , niisutatud atmosfäär.

Flask Coating

Puudub

**Freezing
Procedure**

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

**Shipping
Conditions**

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

BV2 rakud | 305156

Storage Conditions

Pikaajaliseks säilitamiseks asetage viaalid aurufaasis vedela lämmastikuga umbes -150 kuni -196 °C juures. Säilitamine temperatuuril -80 °C on vastuvõetav ainult lühikese vaheetapina enne vedela lämmastikuga üleviimist.

Kvaliteedikontroll / Geneetiline profiil / HLA

Sterility

Mükoplasmakontaminatsioon on välistatud nii PCR-põhiste analüüside kui ka luminesentsil põhinevate mükoplasma tuvastamise meetodite abil.

Bakteriaalse, seene- või pärmsaaste puudumise tagamiseks kontrollitakse rakukultuure iga päev visuaalselt.