

Komórki BV2 | 305156**Informacje ogólne****Description**

Komórki BV2 są rodzajem linii komórek mikrogleju pochodzącej od myszy C57BL/6, szeroko stosowanego szczepu myszy laboratoryjnych do eksperymentów na zwierzętach. Te komórki mikrogleju zostały unieśmiertelnione przy użyciu retrowirusa J2, który przenosi onkogeny v-raf i v-myc, w wyniku czego powstała stabilna linia komórkowa o unikalnych właściwościach. Komórki BV2 wyrażają jądrowe onkogeny v-myc i cytoplazmatyczne v-RAF, wraz z antygenem env gp70 na ich powierzchni, przyczyniając się do ich roli w odpowiedziach immunologicznych i stanach zapalnych w mózgu. Jedną z kluczowych zalet komórek BV2 jest ich zdolność do zachowania cech morfologicznych i funkcjonalnych pierwotnych mikrogleju, rezydentnych komórek odpornościowych ośrodkowego układu nerwowego, co czyni je idealnym modelem do badania neurodegeneracji i zapalenia mózgu.

Rola mikrogleju w neurodegeneracji, toksykologii i odporności, szczególnie w stanach takich jak choroba Alzheimera, jest stale rozwijającą się dziedziną badań biomedycznych. Tradycyjne badania często opierają się na pierwotnych hodowlach mikrogleju i ciągłych preparatach komórkowych. Wykorzystanie linii komórek podobnych do mikrogleju, takich jak komórki BV2, stanowi obiecującą alternatywę, zapewniając ciągłe i powtarzalne źródło mikrogleju. Komórki BV2, ze względu na ekspresję v-raf/v-myc, wykazują zwiększony metabolizm i wzrost, idealny do badań nad aktywacją mikrogleju i stanem zapalnym. Ich ekspresja specyficznych onkogenów i antygenów odzwierciedla makrofagi, co czyni je cennymi do badania odpowiedzi immunologicznych i mechanizmów chorobowych.

Niedawna ponowna ocena mysich komórek mikrogleju BV2 zbadała ich przydatność jako substytutu pierwotnych mikrogleju (PM). Odpowiedź komórek BV2 na lipopolisacharyd porównano z odpowiedzią mikrogleju zarówno w warunkach in vitro, jak i in vivo, przy czym regulacja genów była średnio nieco mniej wyraźna. Komórki BV2 wykazywały prawidłową regulację tlenu azotu i funkcjonalną odpowiedź na IFN-gamma, parametry krytyczne dla ich interakcji z limfocytami T, neuronami i innymi komórkami gębowymi, takimi jak astrocyty. Stwierdzono również, że komórki BV2 skutecznie stymulują inne komórki gębowe, prowadząc do produkcji interleukiny-6 (IL-6) w astrocytach.

Ta interakcja między astrocytami i mikroglejem ma kluczowe znaczenie dla zrozumienia złożonych interakcji komórka-komórka i odpowiedzi zapalnej w mózgu, zwłaszcza w kontekście chorób neurodegeneracyjnych, takich jak choroba Alzheimera, w których białka takie jak NAPoe31 i NAPoe41, a także szlaki, takie jak reakcja startowa i apoptoza, odgrywają znaczącą rolę.

Komórki BV2 stanowią solidne i niezawodne narzędzie dla badaczy biologii mikrogleju. Ekspresja onkogenów v-raf/v-myc umożliwia im zachowanie kluczowych cech mikrogleju i makrofagów. Komórki BV2 okazały się być ważnym substytutem pierwotnych mikrogleju w różnych warunkach eksperymentalnych, ułatwiając badania nad neurodegeneracją, toksykologią, odpornością i interakcjami komórka-komórka.

Organism Mysz**Tissue** Mózg**Synonyms** BV-2**Charakterystyka**

Komórki BV2 | 305156

Breed/Subspecies	C57BL/6
Age	1 tydzień
Gender	Kobieta
Morphology	Morfologia mikrogleju
Growth properties	Adherent

Dane regulacyjne

Citation	BV2 (numer katalogowy Cytion 305156)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	10090
CellosaurusAccession	CVCL_0182

Dane biomolekularne**Obsługa**

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM stabilnej glutaminy, w: 2,0 g/L NaHCO ₃ (numer artykułu Cytion 820700a)
Supplements	Uzupełnić podłoże 10% FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Zebrać komórki zawiesiny do próbówki o pojemności 15 ml i delikatnie przemyć przylegające komórki PBS pozbawionym wapnia i magnezu (użyć 3-5 ml dla kolb T25 i 5-10 ml dla kolb T75). Nałożyć Accutase (1-2 ml na kolby T25, 2,5 ml na kolby T75), zapewniając pełne pokrycie warstwy komórek. Pozostawić komórki do inkubacji w temperaturze pokojowej przez 10 minut. Po inkubacji połączyć i odwirować zarówno zawiesinę, jak i przylegające komórki. Po odwirowaniu ostrożnie zawiesić osad komórek i przenieść zawiesinę komórek do nowych kolb zawierających świeżą pożywkę.
Split ratio	1 × 10 ⁴ komórek/cm ²

Komórki BV2 | 305156**Fluid renewal** 2 do 3 razy w tygodniu**Freeze medium**

Jako pożywki do kriokonserwacji używamy kompletnej pożywki wzrostowej (w tym FBS) + 10% DMSO w celu zapewnienia odpowiedniej żywotności po rozmrożeniu lub CM-1 (numer katalogowy Cytion 800100), która zawiera zoptymalizowane osmoprotektanty i stabilizatory metaboliczne w celu zwiększenia regeneracji i zmniejszenia stresu wywołanego kriokonserwacją.

Thawing and Culturing Cells

1. Upewnij się, że fiolka pozostaje głęboko zamrożona w momencie dostawy, ponieważ komórki są wysyłane w suchym lodzie, aby utrzymać optymalną temperaturę podczas transportu.
2. Po otrzymaniu należy natychmiast przechowywać fiolkę w temperaturze poniżej -150°C , aby zapewnić zachowanie integralności komórek, lub przejść do kroku 3, jeśli wymagana jest natychmiastowa hodowla.
3. W przypadku natychmiastowej hodowli należy szybko rozmrozić fiolkę, zanurzając ją w łaźni wodnej o temperaturze 37°C z czystą wodą i środkiem przeciwdrobnoustrojowym, delikatnie mieszając przez 40-60 sekund, aż pozostanie niewielka grudka lodu.
4. Wykonaj wszystkie kolejne kroki w sterylnych warunkach w kapturze przepływowej, dezynfekując fiolkę 70% etanolem przed otwarciem.
5. Ostrożnie otworzyć zdezynfekowaną fiolkę i przenieść zawiesinę komórek do 15 ml probówki wirówkowej zawierającej 8 ml podłoża hodowlanego o temperaturze pokojowej, delikatnie mieszając.
6. Wirować mieszaninę z prędkością $300 \times g$ przez 3 minuty w celu oddzielenia komórek i ostrożnie odrzucić supernatant zawierający pozostałości pożywki do zamrażania.
7. Delikatnie ponownie zawiesić osad komórek w 10 ml świeżego podłoża hodowlanego. W przypadku komórek przylegających, rozdzielić zawiesinę pomiędzy dwie kolby hodowlane T25; w przypadku hodowli zawiesinowych, przenieść całą pożywkę do jednej kolby T25 w celu promowania skutecznej interakcji i wzrostu komórek.
8. Przestrzegaj ustalonych protokołów podhodowli w celu ciągłego wzrostu i utrzymania linii komórkowej, zapewniając wiarygodne wyniki eksperymentów.

Incubation Atmosphere 37°C , 5% CO_2 , nawilżona atmosfera.**Flask Coating**

Brak

Komórki BV2 | 305156**Freezing Procedure**

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiołki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Shipping Conditions

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiołki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Storage Conditions

W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiołki w ciekłym azocie w fazie lotnej w temperaturze od -150 do -196 °C. Przechowywanie w temperaturze -80 °C jest dopuszczalne tylko jako krótki etap przejściowy przed przeniesieniem do ciekłego azotu.

Kontrola jakości / Profil genetyczny / HLA**Sterility**

Zanieczyszczenie mykoplazmą jest wykluczone przy użyciu zarówno testów opartych na PCR, jak i metod wykrywania mykoplazmy opartych na luminescencji.

Aby upewnić się, że nie ma zanieczyszczenia bakteriami, grzybami lub drożdżami, hodowle komórkowe są poddawane codziennym kontrolom wizualnym.

Profil STR

M_18-3: 16,17
M_4-2: 20.3
M_6-7: 15
M_3-2: 14
M_19-2: 13
M_7-1: 26.2
M_1-1: 16,17
M_Sex: x
M_8-1: 16
M_2-1: 16
M_15-3: 22.3,23.3,24.3
M_6-4: 18
M_11-2: 16
M_1-2: 19
M_17-2: 15
M_12-1: 17
M_5-5: 17
M_X-1: 27
M_13-1: 17
Human D4/D8: -