

Клетки BEWO | 300123

Обща информация

Description

Клетките BeWo, клетъчна линия, получена от малигнен гестационен хориокарцином на мъжката фетална плацента, са се превърнали в широко използван *in vitro* модел за изследване на плацентата.

Сливането на клетки по време на фазата на синцитиализация на човешкия трофобласт по време на плацентарното развитие е едно от най-значимите, но най-малко проучени събития. Поради трудностите при изучаването на този процес в плацента *in vivo*, BeWo клетките се използват като модел на клетъчна култура за симулиране на *in vivo* синцитиализацията на вилония трофобласт на плацентата.

Тези клетки имат епителноподобен фенотип и са адхезивни. Подклонът b30 на BeWo клетките е особено полезен за изследване на приема и преноса на хранителни вещества поради плътния си растеж върху пропускливи мембрани.

CK 7 и E-cadherin са молекулярни маркери, които се експресират от BeWo клетките. VE-кадхеринът се открива в BeWo клетките и се засилва при третиране с форсколин. Клетките също така експресират кератин и са положителни за G6PD, изоензим В. Кариотипът на BeWo клетките е с модално число = 86, с диапазон от 71 до 178, а броят на стволите линии е хипотетраплоиден.

Кариотипът е относително стабилен в рамките на стволния номер. BeWo клетките отделят различни хормони, включително човешки хорионгонадотропин (hCG), човешки хорионсоматотропин (плацентарен лактоген) и стероидни хормони като естрон, естриол и естрадиол.

Въпреки това, нивата на β -hCG и естрадиол, секретирани от клетките BeWo, са по-ниски от тези, секретирани от други клетъчни линии, получени от хориокарцином, като JEG-3. При третиране с форсколин секрецията на β -hCG в клетките BeWo се увеличава до ниво, подобно на това, наблюдавано при другите клетъчни линии, получени от хориокарцином. Освен това третирането с форсколин повишава и нивата на прогестерон, секретирани от клетките BeWo.

В обобщение, BeWo клетките са широко използван *in vitro* модел за изучаване на плацентарното развитие и процеса на синцитиализация на човешкия трофобласт. Те проявяват епителиално-подобен фенотип, експресират различни молекулярни маркери и секретират множество хормони, включително hCG, плацентарен лактоген и стероидни хормони. Като цяло BeWo клетките са ценен инструмент за изследване на сложните процеси, свързани с развитието на плацентата.

Organism Човек

Tissue Плацента

Disease Хориокарцином

Metastatic site Мозък

Synonyms BeWo, Be Wo, Be-Wo

Характеристики

Клетки BEWO | 300123

Age	Плод
Gender	Мъжки
Morphology	Подобни на епител
Growth properties	Придържачи се

Регулаторни данни

Citation	BEWO (каталожен номер 300123 на Cytion)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_0044

Биомолекулярни данни

Isoenzymes	G6PD, B
Virus susceptibility	Полиовирус 3, везикуларен стоматит (Индиана)
Reverse transcriptase	Отрицателен
Products	Прогестерон, човешки хорион сомамотропин (плацентарен лактоген), естроген, естрон, естриол, естрадиол, кератин

Работа с

Culture Medium	Среда Ham's F12K, w: 2,0 mM L-глутамин, w: 2,0 mM натриев пируват, w: 2,5 g/L NaHCO ₃ (номер на статията в Cytion 820608a)
Supplements	Допълнете средата с 10% FBS
Dissociation Reagent	Accutase

Клетки BEWO | 300123

Subculturing	Отстранете старата среда от адхезивните клетки и ги промийте с PBS, която не съдържа калций и магнезий. За колби T25 използвайте 3-5 ml PBS, а за колби T75 - 5-10 ml. След това покрийте клетките изцяло с Accutase, като използвате 1-2 ml за колби T25 и 2,5 ml за колби T75. Оставете клетките да се инкубират на стайна температура за 8-10 минути, за да се отделят. След инкубацията внимателно разбъркайте клетките с 10 ml среда, за да ги ресуспендирайте, след което центрофугирайте при 300xg за 3 минути. Изхвърлете супернатантата, ресуспендирайте клетките в прясна среда и ги прехвърлете в нови колби, които вече съдържат прясна среда.
Seeding density	Препоръчва се плътност на засяване 1×10^4 клетки/cm ² .
Fluid renewal	2 до 3 пъти седмично
Post-Thaw Recovery	След размразяване, поставете клетките в плаки с плътност 5×10^4 клетки/cm ² и оставете клетките да се възстановят от процеса на замразяване и да се прикрепят за най-малко 24 часа.
Freeze medium	Като среда за криоконсервация използваме пълна среда за растеж (включително FBS) + 10% DMSO за адекватна жизнеспособност след размразяване или CM-1 (каталожен номер 800100 на Cytion), която включва оптимизирани осмопротектори и метаболитни стабилизатори за подобряване на възстановяването и намаляване на криоиндуцирания стрес.

Клетки BEWO | 300123

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Уверете се, че флаконът остава дълбоко замразен при доставката, тъй като клетките се транспортират със сух лед, за да се поддържат оптимални температури по време на транспортирането.
2. При получаване или съхранявайте незабавно криовиолата при температури под $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, за да осигурите запазване на клетъчната цялост, или преминете към стъпка 3, ако е необходимо незабавно култивиране.
3. За незабавно култивиране бързо размразете флакона, като го потопите във водна баня с чиста вода и антимицробен агент с температура $37\text{ }^{\circ}\text{C}$, като разбърквате внимателно в продължение на 40-60 секунди, докато остане малка ледена бучка.
4. Извършвайте всички следващи стъпки при стерилни условия в аспиратор, като преди отваряне дезинфекцирате криовиолата със 70% етанол.
5. Внимателно отворете дезинфекцирания флакон и прехвърлете клетъчната суспензия в 15 ml центрофужна епруветка, съдържаща 8 ml хранителна среда със стайна температура, като разбърквате внимателно.
6. Центрофугирайте сместа при 300 x g в продължение на 3 минути, за да отделите клетките, и внимателно изхвърлете супернатантата, съдържаща остатъчна замразяваща среда.
7. Внимателно ресуспендирайте клетъчната пелета в 10 ml прясна хранителна среда. За адхезивни клетки разделете суспензията между две колби T25; за суспензионни култури прехвърлете цялата среда в една колба T25, за да стимулирате ефективното взаимодействие и растеж на клетките.
8. Придържайте се към установените протоколи за субкултивиране за непрекъснат растеж и поддържане на клетъчната линия, като гарантирате надеждни експериментални резултати.

**Incubation
Atmosphere**

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , овлажнена атмосфера.

Flask Coating

Няма

**Freezing
Procedure**

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

Клетки BEWO | 300123

Shipping Conditions

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително -78 °C по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

Storage Conditions

За дълготрайно съхранение поставете флаконите в течен азот в парна фаза при температура около -150 до -196 °C. Съхранението при -80 °C е приемливо само като кратък междинен етап преди прехвърлянето в течен азот.

Контрол на качеството / Генетичен профил / HLA

Sterility

Замърсяването с микоплазма се изключва както чрез PCR-базирани анализи, така и чрез луминесцентни методи за откриване на микоплазма.

За да се гарантира, че няма бактериално, гъбично или дрождево замърсяване, клетъчните култури се подлагат на ежедневни визуални проверки.

HLA алели

A*: '01:01:01, '11:01:01
B*: '08:13, '35:01:01
C*: '04:01:01, '07:01:01
DRB1*: '01:03:01, '03:01:01
DQA1*: '01:01:01, '05:01:01
DQB1*: '02:01:01, '05:01:01
DPB1*: '01:01:01, '04:01:01
E: '01:01:01