

Buňky BEWO | 300123

Obecné informace

Description

Buňky BeWo, buněčná linie odvozená z maligního gestačního choriokarcinomu mužské placenty, se staly široce používaným in vitro modelem pro studium placenty.

Fúze buněk během fáze syncytizace lidského trofoblastu během vývoje placenty je jednou z nejvýznamnějších, avšak nejméně pochopených událostí. Vzhledem k obtížnosti studia tohoto procesu v placentě in vivo jsou buňky BeWo využívány jako model buněčné kultury pro simulaci syncytizace vilózního trofoblastu placenty in vivo.

Tyto buňky vykazují fenotyp podobný epitelu a jsou adherentní. Podklon b30 buněk BeWo je zvláště užitečný pro studium příjmu a transportu živin díky hustému růstu na propustných membránách.

CK 7 a E-cadherin jsou molekulární markery, které jsou exprimovány buňkami BeWo. VE-kadherin se vyskytuje v buňkách BeWo a je zvýšen při léčbě forskolinem. Buňky také exprimují keratin a jsou pozitivní na izoenzym G6PD, B. Karyotyp buněk BeWo má modální číslo = 86 s rozsahem 71 až 178 a kmenové číslo je hypotetraploidní.

Karyotyp je v rámci kmenového čísla relativně stabilní. Buňky BeWo vylučují různé hormony, včetně lidského choriového gonadotropinu (hCG), lidského choriového somatomammotropinu (placentární laktogen) a steroidních hormonů jako estron, estriol a estradiol.

Hladiny β -hCG a estradiolu vylučované buňkami BeWo jsou však nižší než hladiny vylučované jinými buněčnými liniemi odvozenými od choriokarcinomu, jako je JEG-3. Po léčbě forskolinem se sekrece β -hCG v buňkách BeWo zvýší na úroveň podobnou té, která byla pozorována u ostatních buněčných linií odvozených od choriokarcinomu. Kromě toho léčba forskolinem také zvyšuje hladinu progesteronu vylučovaného buňkami BeWo.

Závěrem lze říci, že buňky BeWo jsou široce používaným in vitro modelem pro studium vývoje placenty a procesu syncytizace lidského trofoblastu. Vykazují fenotyp podobný epitelu, exprimují různé molekulární markery a vylučují více hormonů, včetně hCG, placentárního laktogenu a steroidních hormonů. Celkově jsou buňky BeWo cenným nástrojem pro zkoumání komplexních procesů, které se podílejí na vývoji placenty.

Organism

Člověk

Tissue

Placenta

Disease

Choriokarcinom

Metastatic site

Mozek

Synonyms

BeWo, Be Wo, Be-Wo

Charakteristika

Age

Plod

Buňky BEWO | 300123

Gender Muži**Morphology** Epitelu podobné**Growth properties** Adherentní

Regulační údaje

Citation BEWO (katalogové číslo Cytion 300123)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_0044

Biomolekulární data

Isoenzymes G6PD, B**Virus susceptibility** Poliovirus 3, vezikulární stomatitida (Indiana)**Reverse transcriptase** Negativní**Products** Progesteron, lidský choriový somatomammotropin (placentární laktogen), estrogen, estron, estriol, estradiol, keratin

Zpracování

Culture Medium Ham's F12K Medium, w: 2,0 mM L-Glutamin, w: 2,0 mM Pyruvát sodný, w: 2,5 g/l NaHCO₃ (číslo článku Cytion 820608a)**Supplements** Doplněte médium o 10% FBS**Dissociation Reagent** Accutase

Buňky BEWO | 300123

Subculturing	Odstraňte staré médium z adherovaných buněk a promyjte je PBS bez vápníku a hořčíku. Pro baňky T25 použijte 3-5 ml PBS a pro baňky T75 5-10 ml. Poté buňky zcela zakryjte přípravkem Accutase, přičemž použijte 1-2 ml pro baňky T25 a 2,5 ml pro baňky T75. Nechte buňky inkubovat při pokojové teplotě po dobu 8-10 minut, aby se oddělily. Po inkubaci jemně promíchejte buňky s 10 ml média, aby byly znovu suspendovány, a poté je odstředte při 300xg po dobu 3 minut. Supernatant vyhodte, buňky znovu rozpustte v čerstvém médiu a přeneste je do nových baněk, které již obsahují čerstvé médium.
Seeding density	Doporučená hustota osiva je 1×10^4 buněk/cm ² .
Fluid renewal	2 až 3krát týdně
Post-Thaw Recovery	Po rozmrazení naneste buňky v množství 5×10^4 buněk/cm ² a nechte je alespoň 24 hodin zotavit se z procesu zmrazení a přilnout.
Freeze medium	Jako kryokonzervační médium používáme kompletní růstové médium (včetně FBS) + 10 % DMSO pro zajištění dostatečné životaschopnosti po rozmrazení nebo CM-1 (katalogové číslo 800100 společnosti Cytion), které obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory pro zlepšení regenerace a snížení stresu způsobeného kryo.

Buňky BEWO | 300123

Thawing and Culturing Cells

1. Ověřte si, že lahvička zůstane při dodání hluboce zmrazená, protože buňky se přepravují na suchém ledu, aby se během přepravy udržely optimální teploty.
2. Po obdržení kryovialku buď okamžitě uložte při teplotě nižší než -150 °C, abyste zajistili zachování buněčné integrity, nebo přejděte ke kroku 3, pokud je nutná okamžitá kultivace.
3. Pro okamžitou kultivaci rychle rozmrazte lahvičku ponořením do vodní lázně o teplotě 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálním prostředkem a jemně ji míchejte po dobu 40-60 sekund, dokud nezůstane malý ledový chuchvalec.
4. Všechny další kroky provádějte za sterilních podmínek v průtokové digestoři a před otevřením kryovialku dezinfikujte 70% ethanolem.
5. Opatrně otevřete dezinfikovanou lahvičku a přeneste buněčnou suspenzi do 15 ml centrifugační zkumavky obsahující 8 ml kultivačního média o pokojové teplotě a jemně promíchejte.
6. Směs odstřeďte při 300 x g po dobu 3 minut, aby se buňky oddělily, a supernatant obsahující zbytky mrazicího média opatrně zlikvidujte.
7. Pelety buněk jemně resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačního média. U adherentních buněk rozdělte suspenzi mezi dvě kultivační baňky T25; u suspenzních kultur přeneste veškeré médium do jedné baňky T25, abyste podpořili účinnou interakci a růst buněk.
8. Dodržujte zavedené subkultivační protokoly pro kontinuální růst a udržování buněčné linie, čímž zajistíte spolehlivé výsledky experimentů.

Incubation Atmosphere

37 °C, 5 % CO_2 , zvlhčená atmosféra.

Flask Coating

Žádný

Freezing Procedure

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

Shipping Conditions

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

Buňky BEWO | 300123

**Storage
Conditions**

Pro dlouhodobé uchování umístěte lahvičky do kapalného dusíku v plynné fázi při teplotě přibližně -150 až -196 °C. Skladování při -80 °C je přijatelné pouze jako krátký přechodný krok před přemístěním do kapalného dusíku.

Kontrola kvality a molekulární analýza**Sterility**

Kontaminace mykoplazmaty je vyloučena jak pomocí testů založených na PCR, tak pomocí luminiscenčních metod detekce mykoplazmy.

Aby se zajistilo, že nedojde ke kontaminaci bakteriemi, plísněmi nebo kvasinkami, jsou buněčné kultury denně podrobovány vizuální kontrolám.

Profil STR

Amelogenin: x,y

CSF1PO: 11,12

D13S317: 9, 11

D16S539: 13, 14

D5S818: 10, 11

D7S820: 10, 12

TH01: 9, 9.3

TPOX: 8

vWA: 16

D3S1358: 15

D21S11: 30

D18S51: 14, 16

Penta E: 8, 12

Penta D: 9, 12

D8S1179: 12

FGA: 22, 23, 24

Alely HLA

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