

BEWO-celler | 300123

Generel information

Description

BeWo-celler, en cellelinje, der stammer fra malignt svangerskabschoriokarcinom i den føtale mandlige placenta, er blevet en meget anvendt in vitro-model til undersøgelse af placenta.

Celle-celle-fusionen i den humane trofoblaster syncytialiseringsfase under placentaudviklingen er en af de mest betydningsfulde, men mindst forståede begivenheder. Da det er svært at studere denne proces i en moderkage in vivo, bruges BeWo-celler som en cellekulturmodel til at simulere syncytialisering af den villøse trofoblast i moderkagen in vivo.

Disse celler udviser en epitellignende fænotype og er adhærente. B30-subklonen af BeWo-celler er særlig nyttig til at studere næringsstofoptagelse og -transport på grund af dens tætte vækst på permeable membraner.

CK 7 og E-cadherin er molekulære markører, som udtrykkes af BeWo-celler. VE-cadherin findes i BeWo-celler og forstærkes ved behandling med forskolin. Cellerne udtrykker også keratin og er positive for G6PD, B-isoenzym. BeWo-cellernes karyotype er modalital = 86, med et interval på 71 til 178, og stamlinjetallet er hypotetraploid.

Karyotypen er relativt stabil inden for stamlinjetallet. BeWo-celler udskiller forskellige hormoner, herunder humant choriongonadotropin (hCG), humant chorionsomatotropin (placentalaktogen) og steroidhormoner som østron, østriol og østradiol.

Niveauerne af β -hCG og østradiol, der udskilles af BeWo-celler, er dog lavere end dem, der udskilles af andre choriocarcinom-afledte cellelinjer såsom JEG-3. Ved behandling med forskolin stiger udskillelsen af β -hCG i BeWo-celler til et niveau, der svarer til det, der er observeret i de andre choriocarcinom-afledte cellelinjer. Desuden øger behandling med Forskolin også progesteronniveauerne, der udskilles af BeWo-celler.

Sammenfattende er BeWo-celler en meget anvendt in vitro-model til at studere placentaudvikling og den humane trofoblaster syncytialiseringsproces. De udviser en epitellignende fænotype, udtrykker forskellige molekulære markører og udskiller flere hormoner, herunder hCG, placentalaktogen og steroidhormoner. Samlet set er BeWo-celler et værdifuldt værktøj til at undersøge de komplekse processer, der er involveret i moderkagens udvikling.

Organism

Menneske

Tissue

Moderkagen

Disease

Choriocarcinom

Metastatic site

Hjerne

Synonyms

BeWo, Be Wo, Be-Wo

Karakteristika

Age

Foster

BEWO-celler | 300123

Gender	Mand
Morphology	Epitel-lignende
Growth properties	Vedhæftende

Regulatoriske data

Citation	BEWO (Cytion katalognummer 300123)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_0044

Biomolekylære data

Isoenzymes	G6PD, B
Virus susceptibility	Poliovirus 3, vesikulær stomatitis (Indiana)
Reverse transcriptase	Negativ

Products	Progesteron, humant chorionisk somatomammotropin (placentalaktogen), østrogen, østron, østriol, østradiol, keratin
-----------------	--

Håndtering

Culture Medium	Ham's F12K Medium, m: 2,0 mM L-Glutamin, m: 2,0 mM Natriumpyruvat, m: 2,5 g/L NaHCO ₃ (Cytion artikelnummer 820608a)
Supplements	Suppler mediet med 10% FBS
Dissociation Reagent	Accutase

BEWO-celler | 300123

Subculturing Fjern det gamle medium fra de klæbende celler, og vask dem med PBS, der ikke indeholder calcium og magnesium. Brug 3-5 ml PBS til T25-kolber og 5-10 ml til T75-kolber. Dæk derefter cellerne helt med Accutase, brug 1-2 ml til T25-kolber og 2,5 ml til T75-kolber. Lad cellerne inkubere ved stuetemperatur i 8-10 minutter for at løsne dem. Efter inkubationen blandes cellerne forsigtigt med 10 ml medium for at resuspendere dem, og centrifugeres derefter ved 300xg i 3 minutter. Kassér supernatanten, resuspender cellerne i frisk medium, og overfør dem til nye kolber, der allerede indeholder frisk medium.

Seeding density En udsåningstæthed på 1×10^4 celler/cm² anbefales.

Fluid renewal 2 til 3 gange om ugen

Post-Thaw Recovery Efter optøning skal cellerne udplades med 5×10^4 celler/cm², og cellerne skal have lov til at komme sig efter frysningsprocessen og hæfte sig fast i mindst 24 timer.

Freeze medium Som kryopræserveringsmedium bruger vi komplet vækstmedium (inklusive FBS) + 10 % DMSO for tilstrækkelig levedygtighed efter optøning eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som indeholder optimerede osmobeskyttende stoffer og metaboliske stabilisatorer for at forbedre genopretningen og reducere kryo-induceret stress.

BEWO-celler | 300123

Thawing and Culturing Cells

1. Bekræft, at hætteglasset forbliver dybfrosset ved levering, da cellerne sendes på tøris for at opretholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved modtagelsen skal du enten straks opbevare kryohætteglasset ved temperaturer under -150 °C for at sikre, at cellernes integritet bevares, eller gå videre til trin 3, hvis øjeblikkelig dyrkning er påkrævet.
3. Ved øjeblikkelig dyrkning optøs hætteglasset hurtigt ved at nedsænke det i et 37 °C varmt vandbad med rent vand og et antimikrobielt middel og røre forsigtigt i 40-60 sekunder, indtil der kun er en lille isklump tilbage.
4. Udfør alle efterfølgende trin under sterile forhold i en flowhætte, og desinficer kryovialet med 70 % ethanol, før det åbnes.
5. Åbn forsigtigt det desinficerede hætteglas, og overfør cellesuspensionen til et 15 ml centrifugerør, der indeholder 8 ml kulturmedium ved stuetemperatur, og bland forsigtigt.
6. Centrifuger blandingen ved 300 x g i 3 minutter for at adskille cellerne, og kassér omhyggeligt supernatanten, der indeholder resterende frysemedium.
7. Resuspender forsigtigt cellepelleten i 10 ml frisk dyrkningsmedium. For klæbende celler deles suspensionen mellem to T25-kulturkolber; for suspensionskulturer overføres alt mediet til en T25-kolbe for at fremme effektiv celleinteraktion og -vækst.
8. Overhold etablerede subkulturprotokoller for fortsat vækst og vedligeholdelse af cellelinjen, hvilket sikrer pålidelige eksperimentelle resultater.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO_2 , befugt atmosfære.

Flask Coating

Ingen

Freezing Procedure

Kryopræservede cellelinjer sendes på tøris i valideret, isoleret emballage med tilstrækkeligt kølemiddel til at opretholde ca. -78 °C under hele transporten. Ved modtagelse skal beholderen straks inspiceres, og hætteglassene skal straks overføres til passende opbevaring.

Shipping Conditions

Kryopræservede cellelinjer sendes på tøris i valideret, isoleret emballage med tilstrækkeligt kølemiddel til at opretholde ca. -78 °C under hele transporten. Ved modtagelse skal beholderen straks inspiceres, og hætteglassene skal straks overføres til passende opbevaring.

BEWO-celler | 300123

Storage Conditions

For langtidsopbevaring anbringes hætteglas i flydende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Opbevaring ved -80 °C er kun acceptabelt som et kort mellemtrin før overførsel til flydende nitrogen.

Kvalitetskontrol og molekylær analyse

Sterility

Mycoplasma-kontaminering udelukkes ved hjælp af både PCR-baserede assays og luminescensbaserede mycoplasma-detektionsmetoder.

For at sikre, at der ikke er nogen bakterie-, svampe- eller gærforurening, underkastes cellekulturerne daglige visuelle inspektioner.

HLA-alleler

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