

BEWO-Zellen | 300123

Allgemeine Informationen

Description

BeWo-Zellen, eine Zelllinie, die aus einem malignen Schwangerschafts-Choriokarzinom der fötalen männlichen Plazenta stammt, sind zu einem weit verbreiteten In-vitro-Modell für die Untersuchung der Plazenta geworden.

Die Zell-Zell-Fusion während der Synzytialisierungsphase des menschlichen Trophoblasten während der Plazentaentwicklung ist eines der wichtigsten, aber am wenigsten verstandenen Ereignisse. Da es schwierig ist, diesen Prozess in einer Plazenta in vivo zu untersuchen, werden BeWo-Zellen als Zellkulturmodell verwendet, um die Synzytialisierung des villösen Trophoblasten der Plazenta in vivo zu simulieren.

Diese Zellen weisen einen epithelähnlichen Phänotyp auf und sind adhären. Der b30-Subklon der BeWo-Zellen eignet sich aufgrund seines dichten Wachstums auf durchlässigen Membranen besonders gut zur Untersuchung von Nährstoffaufnahme und -transport.

CK 7 und E-Cadherin sind molekulare Marker, die von BeWo-Zellen exprimiert werden. VE-Cadherin findet sich in BeWo-Zellen und wird durch die Behandlung mit Forskolin verstärkt. Die Zellen exprimieren auch Keratin und sind positiv für G6PD, Isoenzym B. Der Karyotyp der BeWo-Zellen hat eine Modalzahl von 86, mit einer Spanne von 71 bis 178, und die Stammzahl ist hypotetraploid.

Der Karyotyp ist innerhalb der Stammzahl relativ stabil. BeWo-Zellen sezernieren verschiedene Hormone, darunter humanes Choriongonadotropin (hCG), humanes Chorion-Somatomammotropin (Plazenta-Laktogen) und Steroidhormone wie Estron, Estriol und Östradiol.

Die von den BeWo-Zellen ausgeschütteten Mengen an β -hCG und Östradiol sind jedoch niedriger als die von anderen Choriokarzinom-Zelllinien wie JEG-3 ausgeschütteten Mengen. Nach einer Behandlung mit Forskolin steigt die Sekretion von β -hCG in BeWo-Zellen auf ein ähnliches Niveau wie in den anderen Choriokarzinom-Zelllinien. Darüber hinaus erhöht die Behandlung mit Forskolin auch die von den BeWo-Zellen sezernierten Progesteronwerte.

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass BeWo-Zellen ein weit verbreitetes In-vitro-Modell zur Untersuchung der Plazentaentwicklung und des Synzytialisierungsprozesses der menschlichen Trophoblasten sind. Sie weisen einen epithelähnlichen Phänotyp auf, exprimieren verschiedene molekulare Marker und sezernieren mehrere Hormone, darunter hCG, Plazenta-Laktogen und Steroidhormone. Insgesamt sind BeWo-Zellen ein wertvolles Instrument zur Untersuchung der komplexen Prozesse, die bei der Entwicklung der Plazenta ablaufen.

Organism Menschen

Tissue Plazenta

Disease Choriokarzinom

Metastatic site Gehirn

Synonyms BeWo, Be Wo, Be-Wo

Merkmale

BEWO-Zellen | 300123

Age	Fötus
Gender	Männlich
Morphology	Epithelähnlich
Growth properties	Adhärent

Regulatorische Daten

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

Biomolekulare Daten

Isoenzymes	G6PD, B
Virus susceptibility	Poliovirus 3, vesikuläre Stomatitis (Indiana)
Reverse transcriptase	Negativ
Products	Progesteron, humanes Chorion-Somatomammotropin (Plazenta-Laktogen), Östrogen, Östron, Östriol, Östradiol, Keratin

Handhabung

Culture Medium	Ham's F12K Medium, w: 2,0 mM L-Glutamin, w: 2,0 mM Natriumpyruvat, w: 2,5 g/L NaHCO ₃ (Cytion-Artikelnummer 820608a)
Supplements	Ergänzen Sie das Medium mit 10% FBS
Dissociation Reagent	Accutase

BEWO-Zellen | 300123

Subculturing Entfernen Sie das alte Medium von den adhärenen Zellen und waschen Sie sie mit PBS, das kein Kalzium und Magnesium enthält. Für T25-Kolben 3-5 ml PBS und für T75-Kolben 5-10 ml verwenden. Anschließend werden die Zellen vollständig mit Accutase bedeckt, wobei 1-2 ml für T25-Kolben und 2,5 ml für T75-Kolben verwendet werden. Lassen Sie die Zellen 8-10 Minuten bei Raumtemperatur inkubieren, um sie abzulösen. Nach der Inkubation mischen Sie die Zellen vorsichtig mit 10 ml Medium, um sie zu resuspendieren, und zentrifugieren sie dann 3 Minuten lang bei 300xg. Den Überstand verwerfen, die Zellen in frischem Medium resuspendieren und in neue Kolben überführen, die bereits frisches Medium enthalten.

Seeding density Eine Aussaatdichte von 1×10^4 Zellen/cm² wird empfohlen.

Fluid renewal 2 bis 3 Mal pro Woche

Post-Thaw Recovery Nach dem Auftauen die Zellen mit einer Dichte von 5×10^4 Zellen/cm² ausplattieren und die Zellen mindestens 24 Stunden lang vom Gefrierprozess erholen und adhären lassen.

Freeze medium Als Kryokonservierungsmedium verwenden wir komplettes Wachstumsmedium (einschließlich FBS) + 10 % DMSO für eine angemessene Lebensfähigkeit nach dem Auftauen oder CM-1 (Cytion Katalognummer 800100), das optimierte Osmoprotektoren und Stoffwechselstabilisatoren enthält, um die Erholung zu verbessern und kryoinduzierten Stress zu reduzieren.

BEWO-Zellen | 300123

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Vergewissern Sie sich, dass das Fläschchen bei der Lieferung tiefgefroren ist, da die Zellen auf Trockeneis versandt werden, um während des Transports optimale Temperaturen zu erhalten.
2. Lagern Sie das Kryofläschchen nach Erhalt entweder sofort bei Temperaturen unter $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, um die Unversehrtheit der Zellen zu gewährleisten, oder fahren Sie mit Schritt 3 fort, wenn eine sofortige Kultivierung erforderlich ist.
3. Für eine sofortige Kultivierung tauen Sie das Fläschchen schnell auf, indem Sie es in ein 37°C warmes Wasserbad mit sauberem Wasser und einem antimikrobiellen Mittel eintauchen und 40-60 Sekunden lang vorsichtig schütteln, bis ein kleiner Eisklumpen zurückbleibt.
4. Führen Sie alle weiteren Schritte unter sterilen Bedingungen in einer Abzugshaube durch und desinfizieren Sie das Kryo-Fläschchen vor dem Öffnen mit 70%igem Ethanol.
5. Das desinfizierte Fläschchen vorsichtig öffnen und die Zellsuspension unter vorsichtigem Mischen in ein 15-ml-Zentrifugenröhrchen mit 8 ml Kulturmedium bei Raumtemperatur überführen.
6. Zentrifugieren Sie das Gemisch 3 Minuten lang bei $300 \times g$, um die Zellen abzutrennen, und werfen Sie den Überstand mit dem restlichen Gefriermedium vorsichtig.
7. Das Zellpellet vorsichtig in 10 ml frischem Kulturmedium resuspendieren. Bei adhärenenten Zellen die Suspension auf zwei T25-Kulturflaschen aufteilen; bei Suspensionskulturen das gesamte Medium in eine T25-Flasche überführen, um eine effektive Zellinteraktion und ein effektives Wachstum zu fördern.
8. Halten Sie sich an die festgelegten Subkulturprotokolle, um ein kontinuierliches Wachstum und die Aufrechterhaltung der Zelllinie zu gewährleisten und zuverlässige Versuchsergebnisse zu erzielen.

**Incubation
Atmosphere**

37°C , 5% CO_2 , befeuchtete Atmosphäre.

Flask Coating

Keine

**Freezing
Procedure**

Kryokonservierte Zelllinien werden auf Trockeneis in einer validierten, isolierten Verpackung mit ausreichend Kühlmittel versandt, um während des gesamten Transports eine Temperatur von etwa $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ aufrechtzuerhalten. Prüfen Sie den Behälter bei Erhalt sofort und bringen Sie die Fläschchen unverzüglich in ein geeignetes Lager.

BEWO-Zellen | 300123

Shipping Conditions

Kryokonservierte Zelllinien werden auf Trockeneis in einer validierten, isolierten Verpackung mit ausreichend Kühlmittel versandt, um während des gesamten Transports eine Temperatur von etwa -78 °C aufrechtzuerhalten. Prüfen Sie den Behälter bei Erhalt sofort und bringen Sie die Fläschchen unverzüglich in ein geeignetes Lager.

Storage Conditions

Zur Langzeitkonservierung werden die Fläschchen in flüssigem Stickstoff bei etwa -150 bis -196 °C gelagert. Eine Lagerung bei -80 °C ist nur als kurzer Zwischenschritt vor der Überführung in flüssigen Stickstoff akzeptabel.

Qualitätskontrolle / Genetisches Profil / HLA

Sterility

Eine Kontamination mit Mykoplasmen wird sowohl durch PCR-basierte Assays als auch durch lumineszenzbasierte Mykoplasmen-Nachweisverfahren ausgeschlossen.

Um sicherzustellen, dass keine Kontamination mit Bakterien, Pilzen oder Hefen vorliegt, werden die Zellkulturen täglich visuell überprüft.

STR-Profil

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

HLA-Allele

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