

BEWO rakud | 300123

Üldine teave

Description

BeWo rakud, mis on loote meessoost platsenta pahaloomisest gestatsioonikoriokartsinoomist saadud rakuliin, on saanud laialdaselt kasutatavaks in vitro mudeliks platsenta uurimiseks.

Raku ja rakkude ühinemine inimese trofoblastide süntsiatsioonifaasis platsenta arengu ajal on üks olulisemaid, kuid samas kõige vähem mõistetud sündmusi. Kuna seda protsessi on raske uurida platsentas in vivo, kasutatakse BeWo rakke rakukultuurimudelina, et simuleerida platsenta villoosse trofoblasti in vivo süntsiatsioone.

Need rakud omavad epiteelilaadset fenotüüpi ja on adherentsed. BeWo rakkude b30 subkloon on eriti kasulik toitainete omastamise ja transpordi uurimiseks, kuna ta kasvab tihedalt läbilaskvatel membraanidel.

CK 7 ja E-kadheriin on molekulaarsed markerid, mida BeWo rakud ekspresseerivad. VE-kadheriini leidub BeWo rakkudes ja see suureneb ravimisel forskoliiniga. Rakud ekspresseerivad ka keratiini ja on positiivsed G6PD, B isoensüümi suhtes. BeWo rakkude karyotüüp on modaalne arv = 86, vahemikus 71-178, ja tüvirida on hüpotetraploidne.

Karütotüüp on suhteliselt stabiilne tüviridaarvu piires. BeWo rakud eritavad erinevaid hormone, sealhulgas inimese kooriongonadotropiini (hCG), inimese koorionsomatomammotropiini (platsenta laktogeen) ja steroidhormoone nagu östroon, östriool ja östradiool.

BeWo rakkude poolt sekreteeritud β -hCG ja östradiooli tase on siiski madalam kui teiste koorikartsinoomist saadud rakuliinide, näiteks JEG-3, poolt sekreteeritavad tasemed. Forskoliinravi korral suureneb β -hCG sekretsioon BeWo rakkudes sarnasele tasemele, mis on täheldatud teiste koorikartsinoomist saadud rakuliinide puhul. Lisaks suurendab Forskolin-ravi ka BeWo rakkude poolt eritatava progesterooni taset.

Kokkuvõttes on BeWo rakud laialdaselt kasutatav in vitro mudel platsenta arengu ja inimese trofoblastide süntsiatsiooniprotsessi uurimiseks. Neil on epiteelilaadne fenotüüp, nad ekspresseerivad erinevaid molekulaarseid markereid ja eritavad mitmeid hormone, sealhulgas hCG, platsenta laktogeeni ja steroidhormoone. Üldiselt on BeWo rakud väärtuslik vahend platsenta arenguga seotud keeruliste protsesside uurimiseks.

Organism Inimene

Tissue Platsenta

Disease Choriocarcinoma

Metastatic site Aju

Synonyms BeWo, Be Wo, Be-Wo

Omadused

Age Loote

BEWO rakud | 300123

Gender Mees**Morphology** Epiteelilaadsed**Growth properties** Kinnipeetav**Regulatiivsed andmed****Citation** BEWO (Cytioni katalooginumber 300123)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_0044**Biomolekulaarsed andmed****Isoenzymes** G6PD, B**Virus susceptibility** Polioviiirus 3, vesikulaarne stomatiit (Indiana)**Reverse transcriptase** Negatiivne**Products** Progesteron, inimese koorioni somatomammotropiin (platsenta laktogeen), östrogeen, östroon, östriool, östradiool, keratiin**Töötlemine****Culture Medium** Ham's F12K Medium, w: 2,0 mM L-Glutamiin, w: 2,0 mM naatriumpüruvaat, w: 2,5 g/L NaHCO₃ (Cytioni artikli number 820608a)**Supplements** Täiendada söötme 10% FBS-ga**Dissociation Reagent** Accutase

BEWO rakud | 300123

Subculturing Eemaldage kleepunud rakkudel vana söötme ja peske neid PBS-ga, milles puudub kaltsium ja magneesium. T25 kolbide puhul kasutage 3-5 ml PBS-i ja T75 kolbide puhul 5-10 ml. Seejärel katke rakud täielikult Accutase'iga, kasutades 1-2 ml T25 kolbide puhul ja 2,5 ml T75 kolbide puhul. Laske rakkudel inkubeerida 8-10 minutit toatemperatuuril, et need eralduksid. Pärast inkubeerimist segage rakud ettevaatlikult 10 ml söötmega, et neid resuspenseerida, seejärel tsentrifuugige 3 minutit 300xg juures. Visake supernatant ära, suspenseerige rakud uuesti värskes keskkonnas ja viige need uutesse kolvidesse, mis sisaldavad juba värsket keskkonda.

Seeding density Soovitav külvitihedus on 1×10^4 rakku/cm².

Fluid renewal 2 kuni 3 korda nädalas

Post-Thaw Recovery Pärast sulatamist asetage rakud plaadile tihedusega 5×10^4 rakku/cm² ja laske rakkudel külmutamisprotsessist taastuda ja kinnituda vähemalt 24 tunni jooksul.

Freeze medium Krüosäilitusvedelikusena kasutame täielikku kasvukeskkonda (sh FBS) + 10% DMSO, et tagada piisav elujõulisus pärast sulatamist, või CM-1 (Cytioni katalooginumber 800100), mis sisaldab optimeeritud osmoprotektante ja metaboolseid stabilisaatoreid, et parandada taastumist ja vähendada krüostressi.

BEWO rakud | 300123

Thawing and Culturing Cells

1. Veenduge, et vial jääb tarnimisel sügavkülmutatud, sest rakud transporditakse kuiva jääga, et säilitada optimaalne temperatuur transpordi ajal.
2. Pärast kättesaamist säilitage krüoviaal kas kohe temperatuuril alla $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, et tagada rakkude terviklikkuse säilimine, või jätkake sammuga 3, kui on vaja koheselt kultiveerida.
3. Kohese kultiveerimise korral sulatage viali kiiresti, kastes selle $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ veevanni puhta vee ja antimikroobse ainega, segades seda õrnalt 40-60 sekundit, kuni alles jääb väike jääklomp.
4. Tehke kõik järgmised toimingud steriilsetes tingimustes vooluhoodis, desinfitseerides krüoviaal enne avamist 70% etanooliga.
5. Avage desinfitseeritud viali ettevaatlikult ja viige rakususpensioon ettevaatlikult segades 15 ml tsentrifuugitorusse, mis sisaldab 8 ml toatemperatuuril olevat kasvukeskkonda.
6. Rakkude eraldamiseks tsentrifuugige segu $300 \times g$ juures 3 minutit ja visake ülejäänud külmutusvedelikku sisaldav supernatant ettevaatlikult ära.
7. Resuspendeerige rakupellet ettevaatlikult 10 ml värskes kasvukeskkonnas. Adhereerivate rakkude puhul jagage suspensioon kahe T25 kultuurkolvi vahel; suspensioonikultuuride puhul kandke kogu söötme keskkond ühte T25 kolbi, et soodustada rakkude tõhusat koostoimet ja kasvu.
8. Järgige kehtestatud subkultuuriprotokolle rakuliini jätkuvaks kasvuks ja säilitamiseks, tagades usaldusväärsed katsetulemused.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , niisutatud atmosfäär.

Flask Coating

Puudub

Freezing Procedure

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

Shipping Conditions

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

BEWO rakud | 300123

Storage Conditions

Pikaajaliseks säilitamiseks asetage viaalid aurufaasis vedela lämmastikuga umbes -150 kuni -196 °C juures. Säilitamine temperatuuril -80 °C on vastuvõetav ainult lühikese vaheetapina enne vedela lämmastikuga üleviimist.

Kvaliteedikontroll / Geneetiline profiil / HLA

Sterility

Mükoplasmakontaminatsioon on välistatud nii PCR-põhiste analüüside kui ka luminesentsil põhinevate mükoplasma tuvastamise meetodite abil.

Bakteriaalse, seene- või pärmsaaste puudumise tagamiseks kontrollitakse rakukultuure iga päev visuaalselt.

HLA alleles

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