

BEWO-kennot | 300123

Yleisiä tietoja

Description

BeWo-soluista, jotka ovat peräisin pahanlaatuisesta sikiön istukan malignista gestationaalisesta koriokarsinoomasta, on tullut laajalti käytetty in vitro -malli istukan tutkimiseen.

Solujen ja solujen fuusio ihmisen trofoblastien synkistymisvaiheessa istukan kehityksen aikana on yksi merkittävimmistä mutta vähiten ymmärretyistä tapahtumista. Koska tämän prosessin tutkiminen istukassa in vivo on vaikeaa, BeWo-soluja käytetään soluviljelymallina simuloimaan istukan kyläkuvun trofoblastin in vivo-synkyisiutumista.

Näillä soluilla on epiteelin kaltainen fenotyyppi ja ne ovat tarttuvia. BeWo-solujen b30-alaklooni on erityisen käyttökelpoinen ravinteiden ottamisen ja kuljettamisen tutkimiseen, koska se kasvaa tiheästi läpäisevillä kalvoilla.

CK 7 ja E-kadheriini ovat molekyyliomalekureita, joita BeWo-solut ilmentävät. VE-kadheriinia esiintyy BeWo-soluissa, ja se vahvistuu forskoliinikäsittelyssä. Solut ilmentävät myös keratiinia ja ovat positiivisia G6PD, B-isoentsyymeille. BeWo-solujen karyotyyppi on modaaliluku = 86, vaihteluväli 71-178, ja kantaluku on hypotetraploidi.

Karyotyyppi on suhteellisen vakaa kantaluvun sisällä. BeWo-solut erittävät erilaisia hormoneja, kuten ihmisen koriongonadotropiinia (hCG), ihmisen korionisomatototropiinia (istukan laktogeeni) ja steroidihormoneja, kuten estronia, estriolia ja estradiolia.

BeWo-solujen erittämät β -hCG- ja estradiolipitoisuudet ovat kuitenkin alhaisemmat kuin muiden koriokarsinoomasta peräisin olevien solulinjojen, kuten JEG-3:n, erittämät. Forskoliinikäsittelyn jälkeen β -hCG:n erityys BeWo-soluissa lisääntyy samalle tasolle kuin muilla koriokarsinoomasta peräisin olevilla solulinjoilla. Lisäksi forskoliinihoito lisää myös BeWo-solujen erittämää progesteronitasoa.

Yhteenvedona voidaan todeta, että BeWo-solut ovat laajalti käytetty in vitro -malli istukan kehityksen ja ihmisen trofoblastien synkistymisprosessin tutkimiseen. Niillä on epiteelin kaltainen fenotyyppi, ne ilmentävät erilaisia molekyyliomalekureita ja erittävät useita hormoneja, mukaan lukien hCG, istukan laktogeeni ja steroidihormonit. Kaiken kaikkiaan BeWo-solut ovat arvokas väline istukan kehitykseen liittyvien monimutkaisten prosessien tutkimiseen.

Organism Ihminen

Tissue Istukka

Disease Koriokarsinooma

Metastatic site Aivot

Synonyms BeWo, Be Wo, Be-Wo..

Ominaisuudet

BEWO-kennot | 300123

Age	Sikiö
Gender	Mies
Morphology	Epiteelin kaltainen
Growth properties	Tarttuva

Sääntelytiedot

Citation	BEWO (Cytionin luettelonumero 300123)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_0044

Biomolekyylitiedot

Isoenzymes	G6PD, B
Virus susceptibility	Poliovirus 3, vesikulaarinen stomatiitti (Indiana)
Reverse transcriptase	Negatiivinen
Products	Progesteroni, ihmisen korionisomatamotropiini (istukan laktogeeni), estrogeeni, estroni, estrioli, estradioli, keratiini

Käsittely

Culture Medium	Ham's F12K Medium, w: 2,0 mM L-Glutamiinia, w: 2,0 mM natriumpyruvaattia, w: 2,5 g/L NaHCO3 (Cytionin artikkelinumero 820608a)
Supplements	Täydennetään elatusainetta 10 %:lla FBS:llä
Dissociation Reagent	Accutase

BEWO-kennot | 300123

Subculturing Poista vanha väliaine tarttuneista soluista ja pese ne PBS:llä, josta puuttuu kalsiumia ja magnesiumia. Käytä T25-pulloissa 3-5 ml PBS:ää ja T75-pulloissa 5-10 ml. Peitä sitten solut kokonaan Accutase-valmisteella, käyttäen 1-2 ml T25-pulloissa ja 2,5 ml T75-pulloissa. Anna solujen inkuboitua huoneenlämmössä 8-10 minuuttia solujen irtoamiseksi. Inkuboinnin jälkeen solut sekoitetaan varovasti 10 ml:n väliaineella niiden resuspendoimiseksi ja sentrifugoidaan sitten 300xg:n nopeudella 3 minuutin ajan. Hävitä supernatantti, suspendoi solut uudelleen tuoreeseen väliaineeseen ja siirrä ne uusiin pulloihin, jotka sisältävät jo tuoretta väliaineita.

Seeding density Suositeltava siemen tiheys on 1×10^4 solua/cm².

Fluid renewal 2-3 kertaa viikossa

Post-Thaw Recovery Sulattamisen jälkeen levitä solut 5×10^4 solua/cm² ja anna solujen toipua pakastusprosessista ja kiinnittyä vähintään 24 tunnin ajan.

Freeze medium Kryosäilytysmediana käytämme täydellistä kasvualustaa (mukaan lukien FBS) + 10 % DMSO:ta riittävän sulatuksen jälkeisen elinkelpoisuuden varmistamiseksi tai CM-1:tä (Cytionin luettelonumero 800100), joka sisältää optimoituja osmoprotektantteja ja metabolisia stabilisaattoreita, jotka parantavat elpymistä ja vähentävät kryosäilytyksen aiheuttamaa stressiä.

BEWO-kennot | 300123

Thawing and Culturing Cells

1. Varmista, että injektiopullo pysyy syväjäädetyttynä toimitettaessa, sillä solut kuljetetaan kuivajäädessä, jotta optimaalinen lämpötila säilyy kuljetuksen aikana.
2. Vastaanottaessa kryopullo joko säilytetään välittömästi alle -150 °C:n lämpötilassa solujen eheyden säilyttämiseksi tai edetään vaiheeseen 3, jos tarvitaan välitöntä viljelyä.
3. Välitöntä viljelyä varten sulata injektiopullo nopeasti upottamalla se 37 °C:n vesihauteeseen, jossa on puhdasta vettä ja mikrobilääkettä, ja sekoittamalla sitä varovasti 40-60 sekunnin ajan, kunnes jäädästä on jäljellä pieni jäämöhkäle.
4. Suorita kaikki seuraavat vaiheet steriileissä olosuhteissa virtaushupussa ja desinfioi kryopullo 70-prosenttisella etanolilla ennen avaamista.
5. Avaa desinfioitu injektiopullo varovasti ja siirrä solususpensio 15 ml:n sentrifugiputkeen, joka sisältää 8 ml huoneenlämpöistä elatusainetta, varovasti sekoittaen.
6. Sentrifugoi seosta 300 x g:n voimakkuudella 3 minuutin ajan solujen erottamiseksi ja hävitä varovasti supernatantti, joka sisältää jäännöspakastusmediumia.
7. Suspendoidaan solupelletti varovasti uudelleen 10 ml:aan tuoretta elatusainetta. Jos solut ovat tarttuvia, jaa suspensio kahden T25-kolvin kesken; jos kyseessä ovat suspensioviljelmät, siirrä kaikki väliaine yhteen T25-kolviin solujen tehokkaan vuorovaikutuksen ja kasvun edistämiseksi.
8. Noudata vakiintuneita aliviljelyprotokollia solulinjan jatkuvan kasvun ja ylläpidon varmistamiseksi ja luotettavien kokeellisten tulosten varmistamiseksi.

Incubation Atmosphere

37 °C, 5 % CO_2 , kostutettu ilmakehä.

Flask Coating

Ei mitään

Freezing Procedure

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäädessä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

Shipping Conditions

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäädessä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

BEWO-kennot | 300123

Storage Conditions

Pitkäaikaissäilytystä varten injektiopullot asetetaan höyryfaasissa olevaan nestemäiseen tyypeen noin -150 - -196 °C:een. Säilytys -80 °C:ssa on hyväksyttävää vain lyhyenä välivaiheena ennen siirtoa nestemäiseen tyypeen.

Laadunvalvonta ja molekyylianalyysi

Sterility

Mykoplasmakontaminaatio suljetaan pois sekä PCR-pohjaisilla määrityksillä että luminesenssiin perustuvilla mykoplasman osoitusmenetelmillä.

Bakteeri-, sieni- tai hiivakontaminaation välttämiseksi soluviljelmät tarkastetaan päivittäin silmämääräisesti.

HLA-alleelit

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