

BEWO sejtek | 300123

Általános információk

Description

A BeWo sejtek, a magzati hím méhlepény rosszindulatú terhességi kóro-karcinómájából származó sejtvonal, széles körben használt in vitro modellt vált a méhlepény tanulmányozására.

A humán trofoblasztok szinkializációs fázisa során a placenta fejlődése során bekövetkező sejt-sejt fúzió az egyik legjelentősebb, mégis legkevésbé megértett esemény. Mivel ezt a folyamatot nehéz in vivo placentában tanulmányozni, a BeWo sejteket használják sejtenyésztési modellként a placenta villás trofoblasztjának in vivo szinkializációjának szimulálására.

Ezek a sejtek epitéliszzerű fenotípust mutatnak és tapadnak. A BeWo sejtek b30-as szubklónja különösen hasznos a tápanyagfelvétel és -szállítás tanulmányozására, mivel sűrűn növekszik az áteresztő membránokon.

A CK 7 és az E-kadherin olyan molekuláris markerek, amelyeket a BeWo sejtek kifejeznek. A VE-kadherin megtalálható a BeWo sejtekben, és forskolin kezelés hatására fokozódik. A sejtek keratint is expresszálnak, és pozitívak a G6PD, B izoenzimre. A BeWo sejtek kariotípusa modális szám = 86, 71 és 178 közötti tartományban, és a törzsvonalszám hipotetraploid.

A kariotípus viszonylag stabil a törzsszámon belül. A BeWo sejtek különböző hormonokat választanak ki, beleértve a humán koriongonadotropint (hCG), a humán korionszomatotomotropint (placenta laktogén) és a szteroid hormonokat, mint az ösztroon, az ösztriol és az ösztradiol.

A BeWo sejtek által szekretált β -hCG és ösztradiol szintje azonban alacsonyabb, mint a más choriocarcinoma-eredetű sejtvonalak, például a JEG-3 által szekretáltaké. Forskolin-kezelés hatására a BeWo sejtek β -hCG-szekréciója a többi koriokarcinóma-származék sejtvonalban megfigyelt szinthez hasonló szintre emelkedik. Továbbá a Forskolin-kezelés a BeWo sejtek által szekretált progeszteronszintet is növeli.

Összefoglalva, a BeWo sejtek széles körben használt in vitro modell a placenta fejlődésének és a humán trofoblasztok szinkronizációs folyamatának tanulmányozására. Epitéliszzerű fenotípust mutatnak, különböző molekuláris markereket expresszálnak, és több hormont szekretálnak, beleértve a hCG-t, a placenta laktogént és a szteroid hormonokat. Összességében a BeWo sejtek értékes eszközt jelentenek a placenta fejlődésében szerepet játszó komplex folyamatok vizsgálatára.

Organism

Emberi

Tissue

Placenta

Disease

Choriocarcinoma

Metastatic site

Agy

Synonyms

BeWo, Be Wo, Be-Wo, Be-Wo

Jellemzők

Age

Magzat

BEWO sejtek | 300123

Gender Férfi**Morphology** Epithelszerű**Growth properties** Adherent**Szabályozási adatok****Citation** BEWO (Cytion katalógusszám 300123)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_0044**Biomolekuláris adatok****Isoenzymes** G6PD, B**Virus susceptibility** Poliovírus 3, hólyagos szájgyulladás (Indiana)**Reverse transcriptase** Negatív**Products** Progeszteron, humán korionos szomatomamotropin (placenta laktogén), ösztrogén, öszttron, ösztriol, ösztradiol, keratin**A kezelése****Culture Medium** Ham's F12K médium, w: 2,0 mM L-Glutamin, w: 2,0 mM nátrium-piruvát, w: 2,5 g/L NaHCO₃ (Cytion cikkszám 820608a)**Supplements** A táptalajt egészítsük ki 10% FBS-szel**Dissociation Reagent** Accutase

BEWO sejtek | 300123

| | |
|---------------------------|---|
| Subculturing | Távolítsa el a régi táptalajt a megtapadt sejtekről, és mossa őket kalcium- és magnéziummentes PBS-szel. T25-ös lombikokhoz 3-5 ml PBS-t, T75-ös lombikokhoz pedig 5-10 ml-t használjunk. Ezután fedjük be a sejteket teljesen Accutase-zal, T25 lombikok esetében 1-2 ml-t, T75 lombikok esetében 2,5 ml-t használva. A sejteket 8-10 percig hagyjuk szobahőmérsékleten inkubálni, hogy leváljanak. Az inkubálás után óvatosan keverjük össze a sejteket 10 ml tápfolyadékkal, hogy reszuszpendáljuk őket, majd centrifugáljuk 300xg-nél 3 percig. Dobja el a felülúszót, szuszpendálja újra a sejteket friss tápfolyadékban, és helyezze át őket új lombikokba, amelyek már friss tápfolyadékot tartalmaznak. |
| Seeding density | 1×10^4 sejt/cm ² vetési sűrűség ajánlott. |
| Fluid renewal | hetente 2-3 alkalommal |
| Post-Thaw Recovery | Felolvasztás után helyezze a sejteket 5×10^4 sejt/cm ² sűrűséggel lemezre, és hagyja, hogy a sejtek felolvadjanak és legalább 24 órán át tapadjanak. |
| Freeze medium | Krioprezerváló táptalajként teljes növekedési táptalajt (beleértve az FBS-t) + 10% DMSO-t használunk a megfelelő kiolvasztás utáni életképesség érdekében, vagy CM-1-et (Cytion katalógusszám: 800100), amely optimalizált ozmoprotektánsokat és metabolikus stabilizátorokat tartalmaz a regenerálódás fokozása és a krioindukált stressz csökkentése érdekében. |

BEWO sejtek | 300123

Thawing and Culturing Cells

1. Ellenőrizze, hogy az injekciós üveg a szállításkor mélyhűtött marad-e, mivel a sejteket szárazjégen szállítják, hogy a szállítás során az optimális hőmérsékletet fenntartsák.
2. Átvételt követően vagy azonnal tárolja a krioampullát $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ alatti hőmérsékleten a sejtek integritásának megőrzése érdekében, vagy folytassa a 3. lépéssel, ha azonnali tenyésztésre van szükség.
3. Azonnali tenyésztés esetén gyorsan fel kell olvasztani az injekciós üveget úgy, hogy tiszta vízzel és antimikrobiális szerrel ellátott $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ -os vízfürdőbe merítjük, és 40-60 másodpercig óvatosan kevergetjük, amíg egy kis jégcsomó nem marad.
4. Az összes további lépést steril körülmények között, áramlásos elszívóban végezzük el, és nyitás előtt fertőtlenítsük a krioüklét 70%-os etanollal.
5. Óvatosan nyissa fel a fertőtlenített fiolát, és a sejtuszpenziót óvatosan összekeverve helyezze át egy 15 ml-es centrifugacsőbe, amely 8 ml szobahőmérsékletű táptalajt tartalmaz.
6. Centrifugáljuk az elegyet $300 \times g$ -n 3 percig a sejtek szétválasztásához, és óvatosan dobjuk el a maradék fagyasztóközeget tartalmazó felülúszót.
7. Óvatosan szuszpendáljuk újra a sejtet 10 ml friss táptalajban. Adhezív sejtek esetében ossza a szuszpenziót két T25-ös tenyésztőlombik között; szuszpenziós kultúrák esetében az összes tápfolyadékot tegye át egy T25-ös lombikba a hatékony sejt kölcsönhatás és növekedés elősegítése érdekében.
8. A sejt vonal folyamatos növekedése és fenntartása érdekében tartsa be a megállapított szubkultúra protokollokat, biztosítva a megbízható kísérleti eredményeket.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , párasított légkör.

Flask Coating

Nincs

Freezing Procedure

A kriokonzervált sejt vonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ -on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

Shipping Conditions

A kriokonzervált sejt vonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ -on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

BEWO sejtek | 300123

Storage Conditions

Hosszú távú tartósítás céljából helyezze az üvegeket gőzfázisú folyékony nitrogénbe, körülbelül -150 és -196 °C közötti hőmérsékleten. A -80 °C-on történő tárolás csak rövid átmeneti lépésként fogadható el a folyékony nitrogénbe való átvitel előtt.

Minőségellenőrzés / Genetikai profil / HLA

Sterility

A mikoplazma-szennyeződést mind a PCR-alapú vizsgálatokkal, mind a lumineszcencia-alapú mikoplazma-kimutatási módszerekkel kizárják.

A bakteriális, gombás vagy élesztőgombás szennyeződés elkerülése érdekében a sejt kultúrákat napi vizuális ellenőrzésnek vetik alá.

HLA allélok

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