

## BEWO ląstelės | 300123

## Bendra informacija

## Description

BeWo ląstelės, ląstelių linija, gauta iš vyriškos lyties vaisiaus placentos piktybinės gestacijos choriokarcinomos, tapo plačiai naudojamu in vitro modeliui placentai tirti.

Ląstelių susiliejimas žmogaus trofoblasto sinchronizacijos fazėje vykstant placentos vystymuisi yra vienas svarbiausių, tačiau mažiausiai ištirtų įvykių. Kadangi šį procesą placentoje sunku tirti in vivo, BeWo ląstelės naudojamos kaip ląstelių kultūrų modelis, imituojantis placentos vilinio trofoblasto sinchronizaciją in vivo.

Šios ląstelės pasižymi į epitelį panašiu fenotipu ir yra adherentiškos. BeWo ląstelių b30 subklonas yra ypač naudingas tiriant maistinių medžiagų pasisavinimą ir pernešimą, nes tankiai auga ant pralaidžių membranų.

CK 7 ir E-kadherinas yra molekuliniai žymenys, kuriuos išreiškia BeWo ląstelės. VE-kadherinas aptinkamas BeWo ląstelėse, o jo kiekis sustiprėja, kai jos apdorojamos forskolinu. Ląstelės taip pat ekspresuoja keratiną ir yra teigiamos G6PD, B izofermento atžvilgiu. BeWo ląstelių kariotipo modalinis skaičius = 86, nuo 71 iki 178, o kamieninės linijos skaičius yra hipotetraploidinis.

Kariotipas yra gana stabilus kamieno linijos skaičiaus ribose. BeWo ląstelės išskiria įvairius hormonus, įskaitant žmogaus chorioninį gonadotropiną (hCG), žmogaus chorioninį somatomamotropiną (placentos laktogenas) ir steroidinius hormonus estroną, estriolį ir estradiolį.

Tačiau BeWo ląstelių išskiriamų  $\beta$ -hCG ir estradiolio kiekiai yra mažesni nei kitų iš choriokarcinomos kilusių ląstelių linijų, pavyzdžiui, JEG-3, išskiriamų hormonų. Gydant forskolinu, BeWo ląstelėse  $\beta$ -hCG sekrecija padidėja iki panašaus lygio, koks stebimas kitose iš choriokarcinomos kilusiose ląstelių linijose. Be to, gydant forskolinu taip pat padidėja BeWo ląstelių išskiriamo progesterono kiekis.

Apibendrinant galima teigti, kad BeWo ląstelės yra plačiai naudojamas in vitro modelis placentos vystymuisi ir žmogaus trofoblasto sinchronizacijos procesui tirti. Jos pasižymi į epitelį panašiu fenotipu, išreiškia įvairius molekulinis žymenis ir išskiria daugybę hormonų, įskaitant hCG, placentos laktogeną ir steroidinius hormonus. Apskritai BeWo ląstelės yra vertingas įrankis sudėtingiems placentos vystymosi procesams tirti.

**Organism** Žmogus

**Tissue** Placenta

**Disease** Choriokarcinoma

**Metastatic site** Smegenys

**Synonyms** BeWo, Be Wo, Be-Wo

## Charakteristikos

**Age** Vaisius

**Gender** Vyras

**BEWO ląstelės | 300123****Morphology** | epitelį panašus**Growth properties** Priglundęs**Reguliavimo duomenys****Citation** BEWO (Cytion katalogo numeris 300123)**Biosafety level** 1**NCBI\_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL\_0044**Biomolekuliniai duomenys****Isoenzymes** G6PD, B**Virus susceptibility** Poliovirusas 3, vezikulinis stomatitas (Indiana)**Reverse transcriptase** Neigiamas**Products** Progesteronas, žmogaus chorioninis somatomammotropinas (placentos laktogenas), estrogenas, estronas, estriolis, estradiolis, keratinas**Tvarkymas****Culture Medium** Ham's F12K terpė, w: 2,0 mM L-Glutaminas, w: 2,0 mM natrio piruvatas, w: 2,5 g/L NaHCO<sub>3</sub> (Cytion gaminio numeris 820608a)**Supplements** Papildykite terpę 10 % FBS**Dissociation Reagent** Accutase

## BEWO ląstelės | 300123

**Subculturing** Pašalinkite seną terpę nuo prilipusių ląstelių ir nuplaukite jas PBS, kuriame nėra kalcio ir magnio. T25 kolboms naudokite 3-5 ml PBS, o T75 kolboms - 5-10 ml. Tuomet visiškai užpilkite ląsteles "Accutase", naudodami 1-2 ml T25 kolboms ir 2,5 ml T75 kolboms. Leiskite ląstelėms inkubuotis kambario temperatūroje 8-10 minučių, kad jos atsiskirtų. Po inkubacijos atsargiai sumaišykite ląsteles su 10 ml terpės, kad jos vėl suspenduotų, tada 3 minutes centrifuguokite 300xg greičiu. Išmeskite supernatantą, vėl sutirpinkite ląsteles šviežioje terpėje ir perkelkite jas į naujas kolbas, kuriose jau yra šviežia terpė.

**Seeding density** Rekomenduojamas sėjos tankis yra  $1 \times 10^4$  ląstelės/cm<sup>2</sup>.

**Fluid renewal** 2-3 kartus per savaitę

**Post-Thaw Recovery** Atšildžius, išdėliokite ląsteles  $5 \times 10^4$  ląstelių/cm<sup>2</sup> tankumu ir leiskite ląstelėms atsigauti po užšaldymo proceso ir prisitvirtinti bent 24 valandas.

**Freeze medium** Kaip kriokonservavimo terpę naudojame visišką augimo terpę (įskaitant FBS) + 10 % DMSO, kad būtų užtikrintas tinkamas gyvybingumas po atšildymo, arba CM-1 (Cytion katalogo numeris 800100), kurioje yra optimizuotų osmoprotektorių ir medžiagų apykaitos stabilizatorių, kad būtų pagerintas atsigavimas ir sumažintas kriokonservavimo sukeltas stresas.

## BEWO ląstelės | 300123

### Thawing and Culturing Cells

1. Patikrinkite, ar pristatant buteliuką jis išlieka gerai užšaldytas, nes ląstelės gabenamos ant sauso ledo, kad gabenimo metu būtų palaikoma optimali temperatūra.
2. Gavę iš karto laikykite kriovialą žemesnėje nei  $-150^{\circ}\text{C}$  temperatūroje, kad užtikrintumėte ląstelių vientisumo išsaugojimą, arba pereikite prie 3 veiksmo, jei reikia nedelsiant kultivuoti.
3. Jei norite nedelsiant pradėti kultivuoti, greitai atšildykite buteliuką panardindami jį į  $37^{\circ}\text{C}$  temperatūros vandens vonelę su švariu vandeniu ir antimikrobine priemone, švelniai maišydami 40-60 sekundžių, kol liks nedidelis ledo gabalėlis.
4. Visus tolesnius veiksmus atlikite steriliomis sąlygomis srauto gaubte, prieš atidarydami kriovialą dezinfekuokite jį 70 % etanoliu.
5. Atsargiai atidarykite dezinfekuotą buteliuką ir perpilkite ląstelių suspensiją į 15 ml centrifugos mėgintuvėlį, kuriame yra 8 ml kambario temperatūros mitybinės terpės, atsargiai išmaišykite.
6. Mišinį centrifuguokite 300 x g greičiu 3 minutes, kad atsiskirtų ląstelės, ir atsargiai išmeskite supernatantą su šaldymo terpės likučiais.
7. Švelniai resuspenduokite ląstelių granules 10 ml šviežios mitybinės terpės. Jei ląstelės yra prigludusios, suspensiją padalykite į dvi T25 kolbas; jei tai suspensinės kultūros, visą terpę perkelti į vieną T25 kolbą, kad paskatintumėte veiksmingą ląstelių sąveiką ir augimą.
8. Laikykitės nustatytų subkultūrų protokolų, kad ląstelių linija nuolat augtų ir būtų palaikoma, taip užtikrinant patikimus eksperimentų rezultatus.

### Incubation Atmosphere

$37^{\circ}\text{C}$ , 5 %  $\text{CO}_2$ , drėkintoje atmosferoje.

### Flask Coating

Nėra

### Freezing Procedure

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug  $-78^{\circ}\text{C}$  temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelti mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

### Shipping Conditions

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug  $-78^{\circ}\text{C}$  temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelti mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

## BEWO ląstelės | 300123

### Storage Conditions

Norėdami ilgai saugoti, įdėkite buteliukus į garų fazės skystą azotą maždaug -150-196 °C temperatūroje. Laikymas -80 °C temperatūroje yra priimtinas tik kaip trumpas tarpinis etapas prieš perkeliant į skystą azotą.

## Kokybės kontrolė / Genetinis profilis / HLA

### Sterility

Mikoplazmos užterštumas atmetamas taikant PGR pagrįstus tyrimus ir liuminescencinius mikoplazmos aptikimo metodus.

Siekiant užtikrinti, kad nebūtų užteršimo bakterijomis, grybeliais ar mielėmis, ląstelių kultūros kasdien vizualiai tikrinamos.

### HLA aleliai

**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